

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ**  
**ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ**  
**ΥΔΑΤΙΝΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**«Βιοκοινότητες συνοδών βακτηρίων σε καλλιέργειες μικροφυκών»**

**Άννα Τάμπου**

**ΒΟΛΟΣ 2019**

**Τίτλος: Βιοκοινότητες συνοδών βακτηρίων σε καλλιέργειες  
μικροφυκών**

**Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:**

**1. Κωνσταντίνος Κορμάς**, Καθηγητής του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος (Επιβλέπον), Γνωστικό Αντικείμενο: **Μικροβιακή οικολογία υδάτινου περιβάλλοντος.**

**2. Ελένη Μεντέ**, Καθηγήτρια του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος (μέλος), Γνωστικό Αντικείμενο: **Φυσιολογία θρέψης υδρόβιων ζωικών οργανισμών.**

**3. Ήρα Καραγιάννη**, Επίκ. Καθηγήτρια του Τμήματος Βιοτεχνολογικών Τεχνολογιών και Εφαρμογών, Παν/μιο Ιωαννίνων (μέλος), Γνωστικό Αντικείμενο: **Υδροβιολογία.**

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες σε όλους όσους συνέβαλαν στο να φέρω σε πέρας την παρούσα Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία. Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Επιβλέποντα της εργασίας αυτής, κ. Κ. Κορμά, για την πολύτιμη βοήθειά του και τη διαρκή υποστήριξή του, τόσο κατά τη διεξαγωγή του πειράματος όσο και κατά τη συγγραφή της παρούσας εργασίας, καθώς και την κα Ε. Μεντέ για τις χρήσιμες συμβουλές της και την καθοδήγησή της καθ' όλα τα στάδια διεκπεραίωσης της εργασίας.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την κα Ε. Νικούλη για την άμεση και ανιδιοτελή βοήθειά της, όσον αφορά τις εργαστηριακές αναλύσεις και την επεξεργασία των δεδομένων, καθώς επίσης και για την αμέριστη συμπαράστασή της κατά τη διάρκεια του πειράματος.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην οικογένειά μου για την αμέριστη συμπαράσταση, βοήθεια και προ πάντων κατανόηση και ανοχή καθ' όλο το χρονικό διάστημα των σπουδών μου.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....	5
ABSTRACT .....	6
1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	7
1.1 Φύκη και καλλιέργεια μικροφυκών.....	7
1.2 Σχέσεις μεταξύ βακτηρίων και μικροφυκών.....	17
1.3 Ο βιοχημικό ρόλος των βακτηρίων στη φυκόσφαιρα .....	20
1.4 Ο οικολογικός ρόλος των βακτηρίων στη φυκόσφαιρα .....	21
1.5 Δυνητικές χρήσεις των βακτηρίων στην καλλιέργεια μικροφυκών .....	22
1.6 Σκοπός .....	23
2.ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ .....	24
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	25
4.ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	45
5.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....	54
6.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	55
6.1 Ελληνική Βιβλιογραφία.....	55
6.2 Ξένη Βιβλιογραφία.....	55

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο σκοπός της παρούσας έρευνας ήταν ο εντοπισμός των διαφορών στη σύσταση των βακτηριακών κοινοτήτων των μικροφυκών *Tetraselmis suecica* και *Tisochrysis lutea*, όπως διαμορφώθηκαν κατά την καλλιέργεια των μικροφυκών σε διαφανείς σάκους πολυαιθυλενίου και σε φωτοβιοαντιδραστήρα. Κάθε μικροφύκος αυξήθηκε ξεχωριστά και με τους δύο τρόπους καλλιέργειας και δείγματα νερού πάρθηκαν και διηθήθηκαν κατά την αρχή και το τέλος της εκάστοτε καλλιέργειας. Οι μικροοργανισμοί των δειγμάτων αναλύθηκαν με βάση το γονίδιο 16S rRNA και η ανάλυση αποκάλυψε την ύπαρξη περισσότερων βακτηριακών κοινοτήτων στις καλλιέργειες του μικροφύκου *T. suecica*, σε σύγκριση με το *T. lutea*. Επίσης περισσότερες λειτουργικές ταξινομικές μονάδες (Operational Taxonomic Units, OTUs) παρατηρήθηκαν στις καλλιέργειες σε φωτοβιοαντιδραστήρα, ενώ στην αρχή όλων των καλλιεργειών το βακτηριακό φορτίο ήταν μικρότερο σε σχέση με το τέλος αυτών. Σε όλες τις μεταχειρίσεις παρατηρήθηκαν έξι (6) κοινά OTUs. Στην αρχή και στο τέλος της καλλιέργειας του *T. suecica* σε σάκους πολυαιθυλενίου υπήρξε κυριαρχία του Φύλου *Proteobacteria* με ποσοστό 73,99% και 68,1% αντίστοιχα, ενώ στην αρχή και στο τέλος της καλλιέργειάς του σε φωτοβιοαντιδραστήρα η κυριαρχία του Φύλου *Proteobacteria* εμφανίζεται με ποσοστό 85,87% και 63,43% αντίστοιχα. Επιπλέον στην αρχή και στο τέλος της καλλιέργειας του *T. lutea* σε σάκους πολυαιθυλενίου υπήρξε κυριαρχία του Φύλου *Cyanobacteria* με ποσοστό 70,01% και 61,07% αντίστοιχα, ενώ στην αρχή και στο τέλος της καλλιέργειάς του σε φωτοβιοαντιδραστήρα η κυριαρχία του Φύλου *Cyanobacteria* εμφανίζεται με ποσοστό 74,68% και 63,79% αντίστοιχα.

## ABSTRACT

### «Community structure of satellite bacteria in microalgal culture»

The purpose of the following study was to examine the community structure of satellite bacteria in microalgal culture. The culture of *Tetraselmis suecica* and *Tisochrysis lutea* took place in bags and photobioreactor and water samples from the start and the end of each culture were taken. The bacterial communities of the samples were analyzed with 16S rRNA gene diversity. In *T. suecica* cultures the Operational Taxonomic Units (OTUs) were more abundant than that of the *T. lutea* cultures. Moreover, the OTUs in photobioreactor cultures were more than that of the bags and the start of every culture revealed less OTUs than the end. All the treatments had 6 OTUs in common. The dominant Phylum in the start and the end of *T. suecica* culture in bags was *Proteobacteria* in 73.99% and 68.1% respectively. The dominant Phylum in the start and the end of *T. suecica* culture in photobioreactor was *Proteobacteria* in 85.87% and 63.43% respectively. On the other hand the dominant Phylum in the start and the end of *T. lutea* culture in bags was *Cyanobacteria* in 70.01% and 61.07% respectively and in the start and the end of the culture in photobioreactor was 74.68% and 63.79% respectively.

## 1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### 1.1 Φύκη και καλλιέργεια μικροφυκών

Τα φύκη είναι μία πολυφυλετική ομάδα ευκαρυωτικών αυτότροφων οργανισμών. Η πλειονότητά τους αποτελείται από μονοκύτταρες ή πολυκύτταρες δομές που διαβιούν σε υδάτινα περιβάλλοντα, τόσο εσωτερικών υδάτων όσο και θαλάσσιων, αλλά και υφάλμυρων, ενώ ένας μικρός αριθμός αυτών συναντάται και σε χερσαία περιβάλλοντα (Sahoo & Baweja 2016). Επιπλέον, απαντώνται είτε ως μεμονωμένα κύτταρα είτε ως συναθροίσεις κυττάρων (Madigan *et al.* 2013), τόσο ως πλαγκτικοί οργανισμοί όσο και ως βενθικοί, προσκολλημένοι στον πυθμένα, σε σκληρό ή κινητό υπόστρωμα, σε άλλα φύκη ή άλλους έμβιους οργανισμούς. Μπορούν, επίσης, να βρεθούν στα πιο ακραία περιβάλλοντα (Muller-Feuga *et al.* 2003) όπου μπορεί να διεισδύσει το φως και η υγρασία, όπως η υπερπαραλιακή ζώνη, η περιοχή κάτω από τους πολικούς πάγους (Barsati & Gualtieri 2014), μέσα σε πετρώματα ή σε όξινα ενδιαιτήματα (pH 4-5) (Madigan *et al.* 2013). Σύμφωνα με το μέγεθός τους διαχωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες, στα μικροφύκη (0,2 έως 2  $\mu\text{m}$ ) και στα μακροφύκη (λίγα χιλιοστά έως 60 m μήκος) (Gualtieri & Barsanti 2014). Τα φύκη, ως μία αρκετά μεγάλη και ανομοιογενής ομάδα, περιλαμβάνει μία μεγάλη ποικιλία μεγεθών, ενώ επίσης έχει μεγάλη αντοχή σε ένα εύρος θερμοκρασιών, pH, θολερότητας και συγκεντρώσεων διαλυμένου οξυγόνου ( $\text{O}_2$ ) και διοξειδίου του άνθρακα ( $\text{CO}_2$ ) (Barsati & Gualtieri 2014). Ωστόσο, όλοι οι οργανισμοί που την απαρτίζουν έχουν δύο βασικά χαρακτηριστικά, διαθέτουν χλωροφύλλη και διεξάγουν αερόβια φωτοσύνθεση (Madigan *et al.* 2013). Στο θαλάσσιο περιβάλλον έχουν βρεθεί περισσότερα από 5.000 είδη φυτοπλαγκτού, τα οποία αποτελούν την βάση της θαλάσσιας τροφικής αλυσίδας



και παράγουν, κατά προσέγγιση, το 50% του οξυγόνου της ατμόσφαιρας (Barsati & Gualtieri 2014).

Ο ρόλος των μικροφυκών δεν εκτείνεται μόνο στο υδάτινο περιβάλλον, αλλά έχει προσελκύσει και το ανθρώπινο ενδιαφέρον. Πολλά είδη μικροφυκών παράγονται και χρησιμοποιούνται ως τροφή τόσο για ανθρώπινη κατανάλωση όσο και για ζωοτροφή, ως συμπληρώματα διατροφής, φαρμακευτικοί παράγοντες, προϊόντα καλλυντικών, βιοκαύσιμα, αλλά και για την διαχείριση υδατικών λυμάτων και τον περιορισμό του διοξειδίου του άνθρακα (Acien et al. 2017).

Επιπλέον, στον τομέα των υδατοκαλλιεργειών τα μικροφύκη χρησιμοποιούνται ως τροφή των τροχοζώων και των *Artemia* spp. (Øie et al. 2011), των οστράκων και των καρκινοειδών, καθώς και στην τεχνική του «πράσινου νερού» (Κλαουδάτος & Κλαουδάτος 2012). Χρησιμοποιούνται τόσο ως μέσο εμπλουτισμού του ζωοπλαγκτού όσο και ως απευθείας τροφή των ιχθυδίων, ενώ φαίνεται να επηρεάζουν τις μικροβιακές συνθήκες των δεξαμενών εκτροφής, αλλά και τις βακτηριακές κοινότητες του ζωοπλαγκτού, συμβάλλοντας στη διαμόρφωση των βιοκοινοτήτων του πεπτικού σωλήνα των ιχθυδίων (Øie et al. 2011), αποτρέποντας την εγκατάσταση πιθανών παθογόνων βακτηρίων (Muller-Feuga et al. 2003). Τα μικροφύκη παρέχουν μία μεγάλη πληθώρα βιταμινών, ικανών να καλύψουν τις απαιτήσεις των υδρόβιων οργανισμών (Muller-Feuga et al. 2003) και ως παράγοντες εμπλουτισμού των τροχοζώων και των *Artemia* spp. παρέχουν τα απαραίτητα αμινοξέα, λιπαρά οξέα, ενέργεια, βιταμίνες, χρωστικές και στερόλες (Brown 2002). Ως παράδειγμα, κατά τον ίδιο συγγραφέα, μπορεί να αναφερθεί το εξής: τροχόζωα τα οποία ταΐστηκαν με μικροφύκη, έναντι κάποιου άλλου μέσου εμπλουτισμού, είχαν αυξημένα ποσοστά ασκορβικού οξέως (βιταμίνη C). Τα μικροφύκη δεν αποτελούν μόνο τη βάση της τροφικής αλυσίδας στις

μονάδες υδατοκαλλιέργειας, αλλά τοποθετούνται και στις δεξαμενές εκτροφής ιχθυδίων στη λεγόμενη τεχνική του «πράσινου νερού». Η τεχνική αυτή είναι σημαντική στην υδατοκαλλιέργεια, καθώς με την αύξηση της θολερότητας, μεταβάλλεται η απορρόφηση του φωτός στη δεξαμενή, δημιουργούνται σκιές εντός του νερού που βοηθούν τα ιχθύδια στον εντοπισμό των τροχοζώων (Brown & Blackburn 2013; Øie et al. 2011), προάγει την διατροφική ποιότητα του ζωοπλαγκτού, εμπλουτίζει το υδάτινο μέσο με βιταμίνες, προβιοτικά και ουσίες χρήσιμες στην αύξηση των ιχθυδίων, αλλά πιθανώς και να διατηρεί την ισορροπία αμμωνίας ( $\text{NH}_3$ ) και του διαλυμένου οξυγόνου ( $\text{O}_2$ ) (Brown 2002). Επιπλέον, η ποιότητα του νερού αυξάνεται με την απομάκρυνση των αζωτούχων ενώσεων και την παραγωγή οξυγόνου, ενώ τα μικροφύκη παράγουν αντιμικροβιακούς παράγοντες που σε συνδυασμό με τα χημικά ερεθίσματα που δέχονται τα ιχθύδια διεγείρουν την κατανάλωση τροφής, την πέψη και την λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος (Brown & Blackburn 2013). Επίσης, η επιβίωση και η αύξηση των ιχθυδίων αυξάνεται με την προσθήκη μικροφυκών στις δεξαμενές προπάχυνσης και είναι αξιοπρόσεκτη η αναστολή των βακτηρίων *Vibrio* spp. από τα μικροφύκη (Muller-Feuga et al. 2003). Πιο συγκεκριμένα, όταν στο νερό της δεξαμενής προστίθεται το μικροφύκος *Chlorella vulgaris* προάγεται η αύξηση του βακτηρίου *Sulfitobacter* sp., το οποίο αναστέλλει την αύξηση και τη δράση του *Vibrio anguillarum*, υποδηλώνοντας την σημαντικότητα του κλάδου *Roseobacter* στον βιοέλεγχο των δεξαμενών των ιχθυδίων (Sharifah & Eguchi 2012). Ακόμα, κατά την μέθοδο αυτή, έχει αναφερθεί η κατάποση ποσότητας μικροφυκών από ιχθύδια, η οποία ήταν αρκετά μεγάλη για να θεωρηθεί παθητική, ενώ τα είδη μικροφυκών *Tetraselmis* sp. και *Isochrysis galbana* στην εκτροφή των ιχθυδίων καλκανιού οδήγησαν σε αυξημένα ποσοστά επιβίωσης των ιχθυδίων (Øie et al. 2011). Η προσθήκη μικροφυκών

σε δεξαμενές με αυγά ιχθύων βελτιώνει την πλευστότητα των πελαγικών αυγών, μειώνει το σύνδρομο βύθισης στις λάρβες της τσιπούρας και του λαβρακιού, την θανατηφόρο δράση της αντανάκλασης του φωτός στα τοιχώματα της δεξαμενής και το στρες (Muller-Feuga et al. 2003).

Από τα είδη που εκτρέφονται για τροφή στην υδατοκαλλιέργεια το *Tetraselmis suecica* και το *Tisochrysis lutea* παρουσιάζουν έντονο διατροφικό ενδιαφέρον (Brown 2002) και όπως φαίνεται στον Πίνακα 1 το πρωτεϊνικό περιεχόμενό τους και η περιεκτικότητα σε λιπαρά οξέα είναι αυξημένα, καθώς τα απαραίτητα αμινοξέα και οι βιταμίνες που περιέχουν μπορούν να καλύψουν τις απαιτήσεις των υδρόβιων οργανισμών. Επιπλέον, τα συγκεκριμένα μικροφύκη παρουσιάζουν μία άριστη εναλλακτική λύση στην αντικατάσταση των ιχθυαλεύρων και ιχθυελαίων στις ιχθυοτροφές και πειράματα που πραγματοποιήθηκαν στο λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) πρότειναν την αντικατάσταση έως 45% της πρωτεΐνης και 36% των λιπών με τα συγκεκριμένα μικροφύκη, χωρίς την ύπαρξη παθολογικών προβλημάτων στους ιχθύες και την μεταβολή των ποιοτικών χαρακτηριστικών στο τελικό προϊόν (Cardinaletti et al. 2018). Οι Liu et al. (2016) μελέτησαν την διατροφική αξία μιας πληθώρας μικροφυκών (Πίνακας 1 και 2) και κατέληξαν ότι η διατροφή των δίθυρων *Panopea generosa* με συνδυασμό των μικροφυκών *Chaetoceros calcitrans* και *Tisochrysis lutea* προάγει την άριστη αύξηση των λαρβών, ενώ ο συνδυασμός των *Chaetoceros muelleri* και *T. Lutea* προάγει την άριστη ανάπτυξη των οστράκων. Ακόμα, το μικροφύκος *Rhodomonas salina* στην διατροφή του οστράκου *Pecten maximus* αύξησε την παραγωγή των λαρβών του χτενιού και βελτίωσε τον ρυθμό μεταμόρφωσης, καθώς παρείχε αυξημένο ποσοστό οργανικού υλικού και λιπαρών οξέων (Πίνακας 3) στο νερό, με την απορρόφηση των λιπαρών οξέων να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην οντογένεση

των χτενιών (Tremblay et al. 2007). Το ίδιο μικροφύκος έχει προταθεί και ως συστατικό στην διατροφή του *Crassostrea gigas*, λόγω του αυξημένου ποσοστού πρωτεϊνών και λιπαρών οξέων που διαθέτει (Brown et al. 1998). Επίσης, άλλο ένα είδος του γένους *Rhodomonas*, το *Rhodomonas lens* είναι καλή πηγή θρεπτικών συστατικών και κυρίως λιπαρών οξέων και αμινοξέων (Πίνακας 3) και σε συνδυασμό με την ταχεία αύξησή του καθίσταται ιδανική πηγή διατροφής των *Artemia* sp. (Seixas et al. 2009).

**Πίνακας 1:** Διατροφική αξία των μικροφυκών *Tetraselmis suecica* και *Tisochrysis lutea*

	<i>Tetraselmis suecica</i>	<i>Tisochrysis lutea</i>	Πηγή
<b>Νερό (%)</b>	5,9	10	Cardinaletti et al. 2018
<b>Πρωτεΐνες(%)</b>	48,7	46,3	Cardinaletti et al. 2018
<b>Πρωτεΐνες (mg/g ξηρής μάζας)</b>	190,3±17,0	261,1±18,6	Liu et al. 2016
<b>Λίπη(%)</b>	8	26	Cardinaletti et al. 2018
<b>Λίπη(mg/g ξηρής μάζας)</b>	128,1±8,9	280,9±21,2	Liu et al. 2016
<b>Τέφρα (%)</b>	17,5	11,3	Cardinaletti et al. 2018
<b>Υδατάνθρακες (mg/g ξηρής μάζας)</b>	683,7±13,8	390,2±17,8	Liu et al. 2016
<b>Φώσφορος (g/kg)</b>	1,1	0,8	Cardinaletti et al. 2018
<b>β-καροτένη (mg/kg)</b>	267	761,7	Cardinaletti et al. 2018
<b>Απαραίτητα αμινοξέα (%)</b>			
<b>Αργινίνη</b>	2,05	2,52	Cardinaletti et al. 2018
<b>Ιστιδίνη</b>	0,72	0,91	
<b>Ισολευκίνη</b>	1,41	1,76	
<b>Λευκίνη</b>	3,27	3,92	
<b>Λυσίνη</b>	2,27	2,46	
<b>Μεθειονίνη+Κυστεΐνη</b>	1,66	1,41	
<b>Φαινυλαλανίνη+Τυροσίνη</b>	3,98	3,75	

Θρεονίνη	1,81	2,38	
Τρυπτοφάνη	0,3	0,56	
Βαλίνη	1,87	2,37	
Μη απαραίτητα αμινοξέα (%)			
Αλανίνη	2,86	3,17	
Ασπαρτικό οξύ	3,44	4,19	
Γλουταμικό οξύ	5,06	4,58	
Γλυκίνη	2,52	2,64	
Προλίνη	1,8	2,36	
Σερίνη	1,67	2,17	
ω-6 PUFA	2,41	1,98	
ω-3 PUFA	0,16	5,52	
20:5ω3 (%)	2,26	0,19	
20:5ω3 (mg/g ξηρής μάζας)	1,89±0,01	1,54±0,81	Liu et al. 2016
22:6ω3 (%)	-	1,81	Cardinaletti et al. 2018
22:6ω3 (mg/g ξηρής μάζας)	-	9,85±0,38	Liu et al. 2016
ω-3/ω-6 (%)	0,07	2,79	Cardinaletti et al. 2018
ω-3/ω-6 (mg/g ξηρής μάζας)	0,72±0,01	1,33±0,19	Liu et al. 2016
12:0 (%)	0,1	2,1	Cardinaletti et al. 2018
14:0 (%)	1,2	10,5	
14:0 (mg/g ξηρής μάζας)	-	51,28±6,93	Liu et al. 2016
16:0 (%)	17,6	6,8	Cardinaletti et al. 2018
16:0 (mg/g ξηρής μάζας)	13,15±0,6	27,84±2,21	Liu et al. 2016
18:0 (%)	0,2	1,1	Cardinaletti et al. 2018
18:0 (mg/g ξηρής μάζας)	-	0,73±0,42	Liu et al. 2016
20:0 (%)	-	1,6	Cardinaletti et al. 2018
14:1 (mg/g ξηρής μάζας)	-	0,21±0,04	Liu et al. 2016
16:1ω7-9 (%)	5,8	6,3	Cardinaletti et al. 2018
16:1 (mg/g ξηρής μάζας)	-	4,94±1,4	Liu et al. 2016

18:1ω7 (%)	1,4	2,1	Cardinaletti et al. 2018
18:1ω9 (%)	11,4	9,4	
18:1ω9 (mg/g ξηρής μάζας)	9,84±0,59	25,85±6,17	Liu et al. 2016
20:1ω9	1,3	0,5	Cardinaletti et al. 2018
20:1ω9 (mg/g ξηρής μάζας)	-	3,22±0,68	Liu et al. 2016
22:1ω9 (mg/g ξηρής μάζας)	-	0,14±0,08	
18:3ω3 (%)	22,5	7,4	Cardinaletti et al. 2018
18:3ω3 (mg/g ξηρής μάζας)	5,16±0,18	4,59±0,37	Liu et al. 2016
16:4ω3 (%)	15,5	-	Cardinaletti et al. 2018
18:4ω3 (%)	7,2	10,4	
20:4ω3 (%)	0,6	0,3	
22:5ω3 (mg/g ξηρής μάζας)	-	0,08±0,04	Liu et al. 2016
18:2ω6 (%)	3	5,8	Cardinaletti et al. 2018
18:2ω6 (mg/g ξηρής μάζας)	9,63±0,32	9,69±1,66	Liu et al. 2016
18:3ω6 (%)	0,1	1,6	Cardinaletti et al. 2018
18:3ω6 (mg/g ξηρής μάζας)	0,12±0,07	0,77±0,14	Liu et al. 2016
20:4ω6 (%)	0,3	0,5	Cardinaletti et al. 2018
20:4ω6 (AA) (mg/g ξηρής μάζας)	-	0,18±0,03	Liu et al. 2016
22:4ω6 (mg/g ξηρής μάζας)	-	0,27±0,02	
22:5ω6 (%)	-	2,1	Cardinaletti et al. 2018
22:5ω6 (mg/g ξηρής μάζας)	-	1,58±0,04	Liu et al. 2016
Βιταμίνη Α (IU/kg ξηρού βάρους)	493750	127500	Fabregas & Herrero 1990
Τοκοφερόλη (Ε) (mg/kg ξηρής μάζας)	421,8	58,2	
Θειαμίνη (Β1) (mg/kg ξηρής μάζας)	32,3	14	

Ριβοφλαβίνη (B2) (mg/kg ξηρής μάζας)	19,1	30
Πυριδοξίνη (B6) (mg/kg ξηρής μάζας)	2,8	1,8
Κοβαλαμίνη (B12) (mg/kg ξηρής μάζας)	0,5	0,6
Φολικό οξύ (B9) (mg/kg ξηρής μάζας)	3	3
Νικοτινικό οξύ (Νιασίνη, B3) (mg/kg ξηρής μάζας)	89,3	77,7
Παντοθενικό οξύ (B5) (mg/kg ξηρής μάζας)	37,7	9,1
Βιοτίνη (B7) (mg/kg ξηρής μάζας)	0,2	1
Ασκορβικό οξύ © (mg/kg ξηρής μάζας)	191	119

**Πίνακας 2:** Διατροφική αξία των μικροφυκών *Chaetoceros calcitrans*, *Chaetoceros mulleri*, *Dunaliella tertiolecta*, *Pavlova lutheri*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Thalassiosira pseudonana* (Liu et al. 2016)

mg/g ξηρής μάζας	<i>Chaetoceros calcitrans</i>	<i>Chaetoceros mulleri</i>	<i>Dunaliella tertiolecta</i>	<i>Pavlova lutheri</i>	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	<i>Thalassiosira pseudonana</i>
<b>Πρωτεΐνη</b>	297,2±34,2	248,7±9,9	249,8±12,0	294,3±13,0	243,3±13,4	320,6±26,7
<b>Λίπη</b>	249,5±15,0	280,7±18,9	160,2±3,4	263,1±11,1	283,4±14,0	236,6±16,7
<b>Υδατάνθρακες</b>	453,5±96,9	336,8±5,9	586,4±60,5	291,4±37,0	345,3±27,6	389,6±64,5
<b>Λιπαρά οξέα</b>						
<b>14:0</b>	67,78±14,81	29,58±3,46	0,12±0,02	29,16±6,58	27,85±0,81	22,61±5,16
<b>16:0</b>	19,24±0,46	55,14±16,88	12,24±1,32	25,23±2,50	88,72±12,23	34,53±11,07
<b>18:0</b>	0,11±0,06	1,38±0,61	0,16±0,02	0,26±0,02	1,21±0,16	0,91±0,38
<b>14:1</b>	0,27±0,16	-	-	0,17±0,04	-	-
<b>16:1</b>	47,88±8,50	63,78±16,06	0,05±0,01	33,02±3,86	120,05±12,10	39,94±8,29
<b>18:1n9</b>	0,18±0,11	2,55±1,02	5,40±0,81	2,77±0,47	9,41±1,91	1,67±0,75
<b>20:1n9</b>	0,56±0,07	-	-	0,11±0,07	0,33±0,05	-
<b>22:1n9</b>	-	-	-	-	0,30±0,05	-
<b>18:3n3</b>	0,10±0,05	-	14,75±0,69	0,78±0,13	0,11±0,06	0,04±0,04
<b>20:5n3 (EPA)</b>	25,71±4,95	21,14±0,95	-	20,60±1,48	23,64±3,05	19,69±3,49
<b>22:5n3</b>	-	-	-	-	0,35±0,11	0,50±0,50
<b>22:6n3 (DHA)</b>	1,38±0,25	2,50±0,5	-	12,94±2,70	1,57±0,49	3,08±0,74

18:2n6	3,48±1,58	1,00±0,24	2,53±0,19	1,09±0,24	2,06±0,11	-
18:3n6	0,69±0,11	3,68±0,57	1,58±0,04	0,24±0,03	1,23±0,09	2,11±1,07
20:3n6	-	0,47±0,23	-	-	-	-
20:4n6 (AA)	0,05±0,05	0,95±0,48	-	0,18±0,05	0,31±0,05	-
22:4n6	-	-	-	-	-	-
22:5n6	-	-	-	1,02±0,29	-	-

Πίνακας 3: Διατροφική αξία των μικροφυκών *Rhodomonas lens* και *Rhodomonas salina*

	<i>Rhodomonas lens</i>	Πηγή	<i>Rhodomonas salina</i>	Πηγή
Πρωτεΐνες (% ξηρού βάρους)	-		48±6	Brown et al. 1998
Υδατάνθρακες (% ξηρού βάρους)	-		22±12	
Λίπη (% ξηρού βάρους)	-		22±3	
Τέφρα (% ξηρού βάρους)	-		10±7	
Ενέργεια (kJ/g)	-		22±3	
Λιπαρά οξέα (% των ολικών λιπαρών οξέων)				
14:0	7,6±0,7	Seixas et al. 2009	15,48	Tremblay et al. 2007
16:0	21,2±1,0		20,17	
16:1ω9	1,1±0,2		-	
16:1ω7	2,6±0,7		1,11	
18:0	0,8±0,0		1,46	
18:1ω9	0,7±0,0		11,79	
18:1ω7	2,8±0,4		1,68	
18:2ω6	0,4±0,1		15,01	
18:3ω3	26,4±1,5		7,98	
18:4ω3	18,3±1,5		7,8	
20:4ω3	1,1±0,2			
20:5ω3 (EPA)	8,4±0,6		4,78	
20:4ω6 (AA)	-		2,98	
22:6ω3 (DHA)	6,9±0,7		3,58	
PUFAs	61,4±1,2		46,77	
ω-3	61,0±1,3	24,68		
ω-6	0,4±0,1	22,06		
DHA/EPA	0,8	0,75		
Αμινοξέα (% των ολικών ανινοξέων)				
Αργινίνη	8,2	Seixas et al. 2009		
Ιστιδίνη	2,2			
Ισολευκίνη	4,8			
Λευκίνη	8,5			



<b>Βαλίνη</b>	6,5		
<b>Λυσίνη</b>	5,5		
<b>Φαινυλαλανίνη</b>	5,5		
<b>Μεθειονίνη</b>	2,9		
<b>Θρεονίνη</b>	3,9		
<b>Αλανίνη</b>	7,9		
<b>Ασπαρτικό οξύ+Ασπαραγίνη</b>	10,7		
<b>Κυστεΐνη</b>	0,6		
<b>Γλουταμικό οξύ+Γλουταμίνη</b>	13,9		
<b>Γλυκίνη</b>	6,5		
<b>Προλίνη</b>	4		
<b>Σερίνη</b>	4		
<b>Τυροσίνη</b>	4,3		

Η καλλιέργεια μικροφυκών μπορεί να γίνει μέσω μιας ποικιλίας μεθόδων, από την καλλιέργεια σε κλειστά, ελεγχόμενα συστήματα εντός του εργαστηρίου, έως την καλλιέργεια σε δεξαμενές εξωτερικού χώρου (Barsati & Gualtieri 2014). Τα συστήματα εξωτερικού χώρου μπορεί να είναι είτε φυσικά, όπως λιμνοθάλασσες, λίμνες, νερόλακκοι, είτε τεχνητές υδατοσυλλογές και δεξαμενές (Γκέλης 2015), αλλά και σάκοι πολυαιθυλενίου. Τα συστήματα εσωτερικού χώρου που είναι ευρέως χρησιμοποιούμενα είναι οι γυάλινες ή πλαστικές κωνικές φιάλες, οι σάκοι πολυαιθυλενίου, οι φωτοβιοαντιδραστήρες (photobioreactors), οι αντιδραστήρες (fermentors) (Behrens 2005), οι σωλήνες (Brown 2002) και οι δεξαμενές κλειστού χώρου. Οι φωτοβιοαντιδραστήρες είναι δοχεία κλειστά ή ημίκλειστα στα οποία η ενέργεια διοχετεύεται μέσω ηλεκτρικού φωτισμού και χρησιμοποιούνται για την καλλιέργεια φωτότροφων οργανισμών. Οι αντιδραστήρες είναι επίσης κλειστά ή ημίκλειστα δοχεία στα οποία, όμως, η ενέργεια διοχετεύεται με την μορφή του οργανικού άνθρακα και χρησιμοποιούνται για την παραγωγή ετερότροφων μικροφυκών (Behrens 2005). Η επιλογή αυτών των συστημάτων εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως ο τρόπος με τον οποίο αυξάνονται τα μικροφύκη, το τελικό προϊόν, την αξία και την μετέπειτα

χρήση αυτού του προϊόντος, ενώ προτείνεται η χρήση των αντιδραστήρων, ως ένα πιο οικονομικό μέσο, στις περιπτώσεις που η αύξηση των μικροφυκών μπορεί να γίνει ετερότροφα (Behrens 2005). Η καλλιέργεια του φυτοπλακτού διακρίνεται σε στατική ή καλλιέργεια δέσμης ή ολικής συγκομιδής (batch culture), συνεχή και ημισυνεχή (Κλαουδάτος & Κλαουδάτος 2012). Στη στατική καλλιέργεια μία αρχική ποσότητα μικροφύκους εμβολιάζεται σε σταθερό όγκο θρεπτικού μέσου και συλλέγεται κατά την στατική φάση της αύξησης του μικροφύκους, χωρίς προηγουμένως να έχουν γίνει άλλοι χειρισμοί (Behrens 2005; Barsanti & Gualtieri 2014). Στη συνεχή καλλιέργεια ποσότητα φυτοπλακτού μεταφέρεται εκτός δοχείου και αντικαθίσταται από ίση ποσότητα θρεπτικού μέσου και νερού, ενώ στην ημισυνεχή καλλιέργεια ποσότητα ίση με το  $\frac{1}{4}$  του συνολικού όγκου της δεξαμενής ή του δοχείου αφαιρείται καθημερινά και αντικαθίσταται, επίσης, με ίσο όγκο θρεπτικού μέσου και νερού (Κλαουδάτος & Κλαουδάτος 2012).

Η συνολική παραγωγή των φυκών έχει την τάση να αυξάνεται με το πέρασμα του χρόνου και το 2015 έφθασε τους 29.363.158 τόνους που επέφεραν 4.846.891 USD, ενώ η καλλιέργεια των θαλάσσιων φυκών κατέχει το μεγαλύτερο ποσοστό (96%) με 28.110.764 τόνους και έσοδα 4.710.645 USD (FAO 2015).

## 1.2 Σχέσεις μεταξύ βακτηρίων και μικροφυκών

Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των κυττάρων των μικροφυκών και των βακτηρίων λαμβάνουν χώρα στο μικροπεριβάλλον που απαρτίζει το κύτταρο του μικροφύκους και είναι πλούσιο σε θρεπτικά (Azam & Malfatti 2007). Το περιβάλλον αυτό ονομάζεται φυκόσφαιρα (Bell & Mitchell 1972) και είναι το ανάλογο της ριζόσφαιρας των φυτών

(Seymour *et al.* 2017). Οι αλληλεπιδράσεις αυτές βασίζονται στην παροχή πόρων, καθώς τα μικροφύκη παράγουν πολυσακχαρίτες, βλέννα και πρωτεογλυκάνες που αν και παράγονται εν μέρη για την προστασία του κυττάρου από τα βακτήρια, τα τελευταία φαίνεται να προσελκύονται από αυτά τα θρεπτικά καθώς η εύρεσή τους στην υδάτινη στήλη είναι δυσχερής (Azam & Malfatti 2007). Κατά συνέπεια, οι σχέσεις στην φυκόσφαιρα κυμαίνονται μεταξύ της αμοιβαίας συμβίωσης, του ανταγωνισμού και του παρασιτισμού και παρόλο που συμβαίνουν σε κλίμακα μικροπεριβάλλοντος, φαίνεται να επηρεάζουν το υδάτινο οικοσύστημα ως σύνολο (Seymour *et al.* 2017).

Οι αμοιβαίες σχέσεις φαίνεται να είναι οι πιο διαδομένες στην φυκόσφαιρα. Μία από αυτές έγκειται στη βακτηριακή παραγωγή βιταμινών, τις οποίες δεν μπορεί να τις παράγει το μικροφύκος και επωφελείται από αυτήν την παραγωγή για την αύξηση του, ενώ προσφέρει με την σειρά του οργανικό άνθρακα στο βακτήριο (Durham *et al.* 2015). Αυτή η παραγωγή βιταμινών και δευτερευόντων μεταβολιτών συμβάλλει στην αφομοίωση των θρεπτικών από το μικροφύκος, με αποτέλεσμα την ανάπτυξη του (Prieto *et al.* 2015). Άλλη μία πτυχή αυτής της σχέσης είναι η παροχή από το διάτομο *Pseudo-Nitzschia multiseries* στα βακτήρια *Rhodobacteraceae* μορίων οργανικού θείου, όπως το αμινοξύ ταυρίνη και το διμεθυλσουλφιδοπροπάνιο (DMSP), σε αντάλλαγμα το αμμώνιο που παράγουν τα βακτήρια, ενώ επίσης, το διάτομο προσφέρει το αμινοξύ τρυπτοφάνη, το οποίο εντός του βακτηρίου μετατρέπεται στην ορμόνη ινδολο-3-οξεικό οξύ (IAA), η οποία επιστρέφει στο διάτομο και χρησιμοποιείται για την αύξηση της παραγωγής άνθρακα και για την κυτταρική διαίρεση του (Amin *et al.* 2015). Επιπλέον, τα κυανοβακτήρια δεσμεύουν άζωτο το οποίο χρησιμοποιούν τα διάτομα σε αντάλλαγμα οργανικού άνθρακα και αμινοξέων (Thompson *et al.* 2012), ενώ μπορεί άλλη μία ανταλλαγή μικροθρεπτικών να θεωρηθεί ως μέρος μιας σχέσης συμβίωσης,

καθώς ο σίδηρος μέσα από μία αρκετά σύνθετη πορεία παρέχεται από τα είδη *Marinobacter* σε ένα εύρος ειδών φυτοπλαγκτού, τα οποία σε αντάλλαγμα παρέχουν στα βακτήρια διαλυμένο οργανικό άνθρακα (Milici *et al.* 2016). Τα διάτομα εκκρίνουν εξωκυττάρια πολυακόρεστες αλδεΐδες οι οποίες επηρεάζουν την αύξηση των βακτηρίων είτε διεγείροντας είτε αναστέλλοντάς την (Ribalet *et al.* 2008).

Ο ανταγωνισμός συνήθως περιλαμβάνει τον συναγωνισμό για τα ανόργανα θρεπτικά, την θανατηφόρο δράση των βακτηρίων έναντι των μικροφυκών και τους μηχανισμούς των μικροφυκών έναντι αυτής της δράσης (Seymour *et al.* 2017). Συνήθως η μείωση των μικροφυκών λόγω της βακτηριακής δράσης αποδίδεται και ως παρασιτισμός (Ramanan *et al.* 2016). Πολλά είδη μικροφυκών παράγουν αντιμικροβιακές ουσίες (κάποιες από τις οποίες ανήκουν στα λιπαρά οξέα) που αναστέλλουν την αύξηση συγκεκριμένων βακτηρίων στην φυκόσφαιρα, όπως στελέχη *Staphylococcus* (Natrash *et al.* 2013). Τα βακτήρια, επίσης, παράγουν ουσίες που επιφέρουν τον κυτταρικό θάνατο των μικροφυκών, αλλά μπορούν και να προκαλέσουν την λύση των κυττάρων προσκολλώντας σε αυτά και εκκρίνοντας διάφορα ένζυμα (Mayali & Azam 2004). Συχνά η συμβίωση μπορεί να καταλήξει σε ανταγωνισμό και σε μείωση των μικροφυκών, όπως συμβαίνει στην περίπτωση των διατόμων και του βακτηρίου *Croceibacter atlanticus*, όπου όταν μειωθούν τα θρεπτικά συστατικά το διάτομο αναστέλλει τον μεταβολισμό του και το βακτήριο στρέφεται στην λύση του διατόμου (Van Tol *et al.* 2017).

### 1.3 Ο βιοχημικό ρόλος των βακτηρίων στη φυκόςφαιρα

Τα βακτήρια της φυκόςφαιρας εμπλέκονται σε μία πληθώρα βιοχημικών μονοπατιών και οι χημικές ουσίες που παράγουν μπορούν να δράσουν θετικά ή αρνητικά στην αύξηση των μικροφυκών. Περίπου το 50% του διαλυμένου άνθρακα που παράγεται από το φυτοπλαγκτόν στον ωκεανό καταναλώνεται από βακτήρια, ενώ φαίνεται κάποια από αυτά να απελευθερώνουν βιταμίνες του συμπλέγματος B, όπως τα βακτήρια *Roseobacter* παράγουν την βιταμίνη B<sub>12</sub> (Durham *et al.* 2015). Παράδειγμα αποτελεί το δινομαστιγωτό *Prorocentrum minimum* που παρέχει βιταμίνη B<sub>3</sub>, πηγή οργανικού άνθρακα και 4-αμινοβενζοϊκό οξύ στο *Dinoroseobacter shibae*, το οποίο παρέχει στο μικροφύκος βιταμίνη B<sub>12</sub> (Wang *et al.* 2014). Επιπλέον, τα βακτήρια χρησιμοποιούν ως πηγή άνθρακα τις εξωκυττάρειες πολυμερικές ενώσεις (Extracellular Polymeric Substance, EPS) οι οποίες παράγονται από διάτομα για την προστασία του κυττάρου τους (Mishra *et al.* 2011), αλλά και το υδροξυαιθανικό οξύ που παράγεται εξίσου από μικροφύκη (Lau & Armbrust 2006). Ο σίδηρος αποτελεί απαραίτητο ιχνοστοιχείο για την θαλάσσια ζωή, αλλά το ποσοστό διαθεσιμότητάς του σε μορφή αξιοποιήσιμη από τους έμβιους οργανισμούς είναι μικρό (Amin *et al.* 2012). Πολλά θαλάσσια βακτήρια, με κυριότερα αυτά του γένους *Marinobacter* παράγουν οργανικές χηλικές ενώσεις ώστε να δεσμεύσουν το σίδηρο και να τον μετατρέψουν σε διαθέσιμη μορφή, η οποία αξιοποιείται από μικροφύκη σε αντάλλαγμα διαλυμένης οργανικής ύλης (Amin *et al.* 2012; Milici *et al.* 2016). Το άζωτο σε βιολογικά αξιοποιήσιμη μορφή, όπως το αμμώνιο, παρέχεται στο νερό από βακτήρια (Canfield *et al.* 2010; Thompson *et al.* 2012), τα νιτροποιητικά κυανοβακτήρια παράγουν αμμωνία και διαλυμένο οργανικό άζωτο ( Foster *et al.* 2011), ενώ τα βακτήρια *Rhodobacteraceae* εμπλέκονται στην μετατροπή του θείου και στην παραγωγή αμμωνίου (Amin *et al.*

2015). Επιπλέον, συμβάλλουν στην ανακύκλωση ιόντων αμμωνίου και φωσφόρου, όπως στην περίπτωση του βακτηρίου *Azospirillum brasilense* και του μικροφύκου *Chlorella vulgaris* (de-Bashan *et al.* 2002). Βακτήρια που ανήκουν στον κλάδο *Roseobacter* μετατρέπουν το DMSP σε διμεθυλσουλφίδιο (DMS), χρησιμοποιώντας το DMSP ως πηγή θείου (Geng & Belas 2010). Σημαντική είναι και η απελευθέρωση μαγγανίου που συμβαίνει κατά την άνθηση του *Phaeocystis pouchetii* και των βακτηρίων που το συνοδεύουν (Davidson & Marchant 1987).

#### 1.4 Ο οικολογικός ρόλος των βακτηρίων στη φυκόςφαιρα

Οικολογικά τα βακτήρια εξασφαλίζουν ισορροπία στους κύκλους των θρεπτικών και στη ροή ενέργειας, επηρεάζοντας τα διαφορετικά τροφικά επίπεδα κατά μήκος της υδρόβιας τροφικής αλυσίδας (Cotner & Biddanda 2002). Επίσης, μεγάλης σημασίας είναι ο έλεγχος της αύξησης των μικροφυκών (Doucette *et al.* 1999; Mayali & Azam 2004; Grossart *et al.* 2006), καθώς παίζουν σημαντικό ρόλο στην διαμόρφωση της σύνθεσης των πληθυσμών μικροφυκών στα πελαγικά περιβάλλοντα (Meyer *et al.* 2017). Παράδειγμα αποτελεί το διάτομο *Thalassiosira rotula*, το οποίο σχηματίζει συσσωματώματα που αποικούνται από βακτήρια, με τα τελευταία να συμβάλλουν στην αποικοδόμηση του διατόμου κατά την στατική φάση της αύξησής τους (Grossart *et al.* 2006). Επιπλέον, οι μειώσεις του φυτοπλαγκτού εξαιτίας των βακτηρίων *Roseobacter* και *Flavobacteria* συμβάλλουν στην ισορροπία και την μεταβολή των θρεπτικών συστατικών, με κυριότερο τον άνθρακα (Buchan *et al.* 2014). Η επανένταξη του οργανικού αζώτου στην τροφική αλυσίδα γίνεται και δια μέσου των βακτηρίων *Alteromonas sp.* και *Muricauda sp.*, τα οποία δρουν ως αρωγοί για την απορρόφηση του αζώτου από τα κύτταρα της *Dunaliella sp.* (Chevanton *et al.* 2013).

### 1.5 Δυνητικές χρήσεις των βακτηρίων στην καλλιέργεια μικροφυκών

Τα βακτήρια της φυκόσφαιρας φαίνεται να είναι σημαντικά για τα μικροφύκη, καθώς ενισχύουν την αύξησή τους και την άμυνά τους έναντι των παθογόνων μικροοργανισμών (Ramanan *et al.* 2015), συνεπώς η καλλιέργειά τους στην ίδια δεξαμενή καλό είναι να ενισχύεται αντί να αποφεύγεται. Επιπλέον, η παρουσία των βακτηρίων διεγείρει την φυσιολογική κατάσταση των μικροφυκών, η οποία μπορεί να εκδηλωθεί με αυξημένη περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη, υψηλότερη παραγωγή βιομάζας, σταθερότερες συνθήκες καλλιέργειας και καθυστέρηση της φάσης θανάτου (Bruckner *et al.* 2011). Η ενίσχυση και η σταθερότητα της παραγωγής των μικροφυκών μπορεί να ενισχυθεί από την παραγωγή βακτηριακών βιταμινών και αυξητικών ορμονών, από την ανακύκλωση των ανόργανων θρεπτικών ουσιών και την παροχή συνθηκών που προσομοιάζουν το φυσικό περιβάλλον (Natrash *et al.* 2013). Άλλες χρήσεις των βακτηρίων σε συνδυασμό με μικροφύκη μπορούν να εντοπιστούν στην τεχνική του πράσινου νερού των υδατοκαλλιεργειών (Nakase & Eguchi 2007), στην καλλιέργεια μικροφυκών για την χρήση τους ως τροφή στις υδατοκαλλιεργείες, στην εγκατάσταση λαρβών οστράκων (Avendano-Herrera & Riquelme 2007) και στον έλεγχο των ασθενειών των ιχθύων (Sharifah & Egushi 2012; Mata *et al.* 2017), ενώ δεν θα πρέπει να παραλείπεται η πιθανή χρήση ορισμένων βακτηρίων στην κατάρρευση τοξικών φυτοπλαγκτικών ανθήσεων (Doucette *et al.* 1999; Mayali & Azam 2004). Τέλος μπορούν να συνεισφέρουν στην απομάκρυνση ιόντων αμμωνίου και φωσφόρου από υδατικά λύματα (de-Bashan *et al.* 2002; Quijano *et al.* 2017), αλλά και για τον ευκολότερο διαχωρισμό των μικροφυκών σε υδάτινα διαλύματα (Lee *et al.* 2013).

## 1.6 Σκοπός

Ο σκοπός της εργασίας ήταν να προσδιοριστούν οι διαφορές στη βακτηριακή σύσταση ειδών σε δύο καλλιέργειες μικροφυκών που έχουν αυξηθεί με κλασική μέθοδο (διαφανείς σακούλες) και σε φωτοβιοαντιδραστήρα, με στόχο να προσδιοριστεί ποιά από τις μεθόδους αύξησης των μικροφυκών εμφανίζει ευνοϊκότερες σχέσεις βακτηρίων-μικροφυκών, ώστε να συγκριθεί η θρεπτική αξία των μικροφυκών για χρήση τους ως τροφή στις υδατοκαλλιέργειες.



## 2.ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

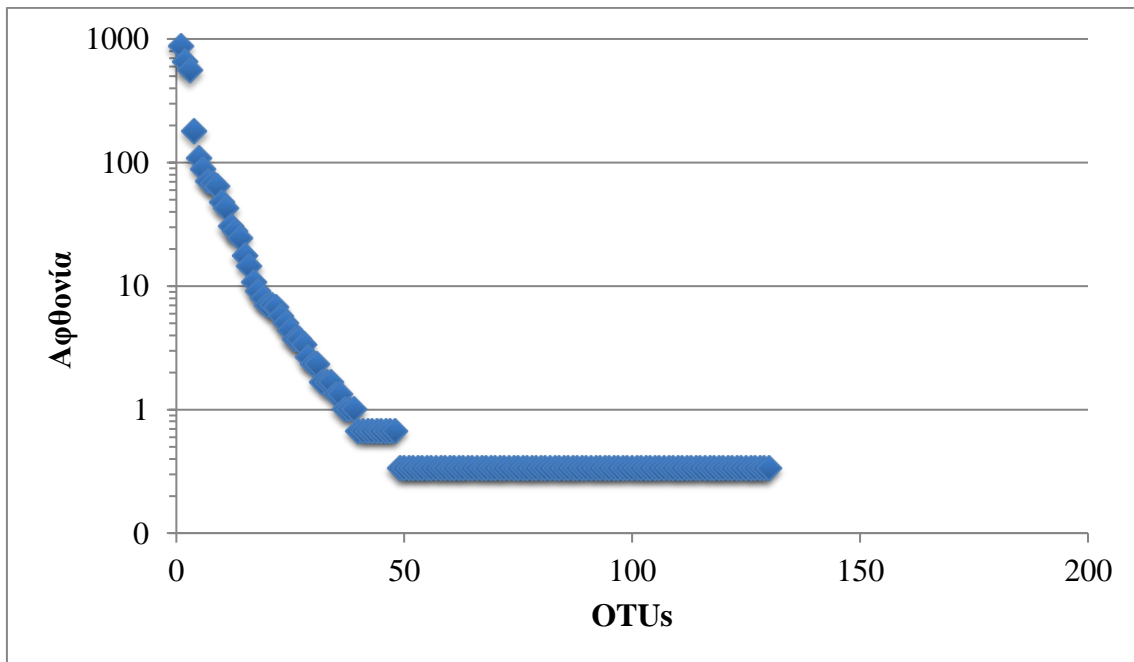
Στην παρούσα πειραματική διαδικασία χρησιμοποιήθηκαν στελέχη των θαλάσσιων μικροφυκών *Tisochrysis lutea* και *Tetraselmis suecica* τα οποία καλλιεργήθηκαν στο εργαστήριο Υδατοκαλλιεργειών του University of Vigo, Spain. Κάθε είδος αυξήθηκε για 7 ημέρες με δύο μεταχειρίσεις: (α) σε διαφανείς σακούλες και (β) σε κλειστό φωτοβιοαντιδραστήρα, με θρεπτικό μέσο αύξησης f2. Οι συνθήκες αύξησης των μικροφυκών παρέμειναν σταθερές καθ' όλη την πορεία της καλλιέργειας, με pH  $8,3 \pm 0,05$  και θερμοκρασία  $T 22^{\circ} \pm 0,1^{\circ} \text{C}$ . Επαναληπτικά δείγματα 50-100 ml από τις καλλιέργειες συλλέχθηκαν στην αρχή της αύξησης και στο τέλος, όταν είχαν την μέγιστη αφθονία. Ακολούθως, διηθήθηκαν σε ηθμό ίσου πόρου  $0,2 \mu\text{m}$ . Οι ηθμοί καταψύχτηκαν αμέσως μετά στους  $-80^{\circ} \text{C}$ . Ακολούθησε εκχύλιση του DNA και αλληλούχηση του γονιδίου 16S rRNA στην πλατφόρμα Illumina MiSeq 2x300bp, για τον προσδιορισμό της βακτηριακής ποικιλότητας των ηθμών. Στη συνέχεια τα αποτελέσματα αναλύθηκαν με το πρόγραμμα MOTHUR (v. 1.36.0) (Schloss et al. 2009) και ο έλεγχος ποιότητας των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με το πρόγραμμα PyroNoise (Quince et al. 2009), κρατώντας τις αλληλουχίες με  $\geq 250$  ζεύγη βάσεων. Οι παραπάνω αλληλουχίες υποβλήθηκαν σε στοίχιση στη βάση δεδομένων SILVA 119 (Pruesse et al. 2007) και χωρίστηκαν σε OTUs (Operational Taxonomic Units), τα οποία έπειτα από BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) αντιστοιχήθηκαν με ομοιότητα 97% σε γνωστές αλληλουχίες βακτηρίων. Τα αποτελέσματα αναλύθηκαν στο πρόγραμμα Microsoft Excel, ενώ οι διαφορές των βακτηρίων στις μεταχειρίσεις αναλύθηκαν με one-way ANOVA και T-test του προγράμματος IBM SPSS Statistics.

### 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

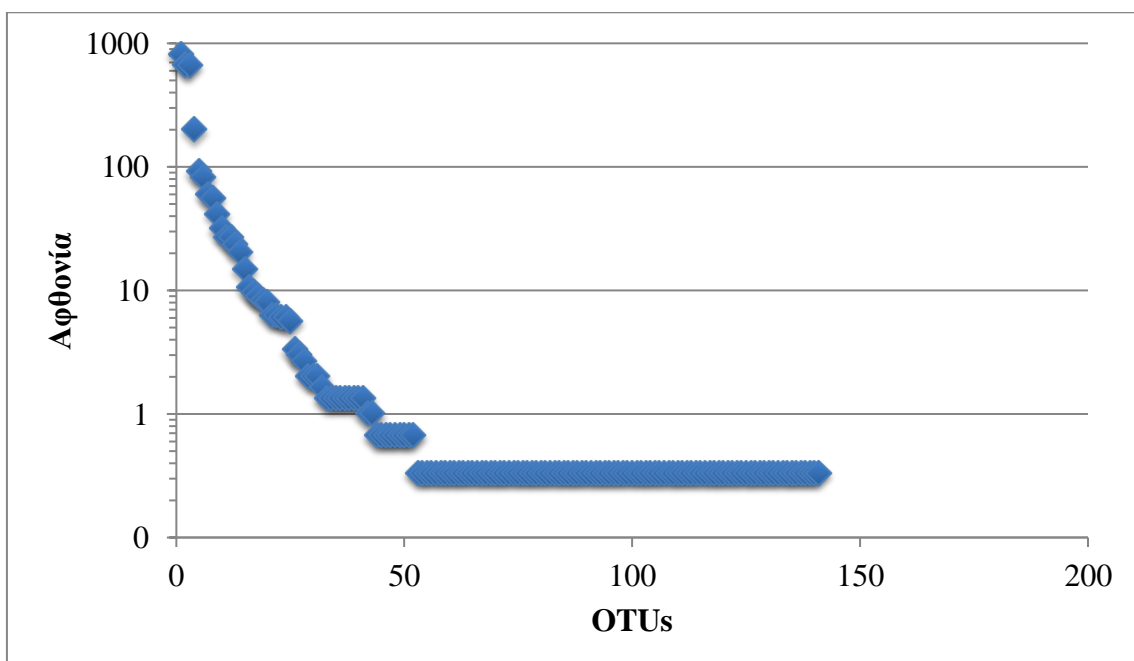
Κατά την καλλιέργεια του μικροφύκου *Tetraselmis suecica* σε σάκους πολυαιθυλενίου τα συνολικά βακτήρια που βρέθηκαν στην αρχή της καλλιέργειας αριθμούν τα 130 OTUs, με αφθονότερο το OTU0004 σε ποσοστό 29,2% επί του συνόλου, ενώ στο τέλος αριθμούν τα 141 OTUs, με αφθονότερο το OTU0004 με ποσοστό 27,5%. Επιπλέον, στην αρχή της καλλιέργειας του ίδιου μικροφύκου σε φωτοβιοαντιδραστήρες βρέθηκαν 168 OTUs, με αφθονότερο το OTU0006 (21,4%) ενώ στο τέλος 224 OTUs, με αφθονότερο το OTU0007 (25,2%). Παράλληλα, κατά την καλλιέργεια του μικροφύκου *Tisochrysis lutea* σε σάκους πολυαιθυλενίου παρατηρήθηκαν στην αρχή της καλλιέργειας 81 OTUs, με αφθονότερο το OTU0001 (69,6%), ενώ στο τέλος 94 OTUs, με αφθονότερο το OTU0001 (60,8%). Ακόμα, στην αρχή της καλλιέργειας του συγκεκριμένου μικροφύκου σε φωτοαντιδραστήρες παρατηρήθηκαν 102 OTUs, με αφθονότερο το OTU0001 (74,2%), ενώ στο τέλος 123 OTUs, με αφθονότερο το OTU0001 (63,6%). Οι βακτηριακές κοινότητες εξετάστηκαν με ANOVA, τα αποτελέσματα των οποίων εμφανίζονται στον Πίνακα 4. Τα διαγράμματα Καμπυλών αφθονίας (Rank Abundance Curve) παρουσιάζονται παρακάτω για κάθε μεταχείριση (Σχήμα 1 έως Σχήμα 8). Η κλίση των καμπυλών εξετάστηκε με T-test και δεν παρουσιάζει στατιστικά σημαντικές διαφορές, εκτός από την περίπτωση του μικροφύκου *Tisochrysis lutea* στο τέλος της καλλιέργειας σε φωτοβιοαντιδραστήρα (Πίνακας 5).

**Πίνακας 4:** Συγκεντρωτικός πίνακας αποτελεσμάτων ANOVA για την αφθονία των βακτηριακών κοινοτήτων

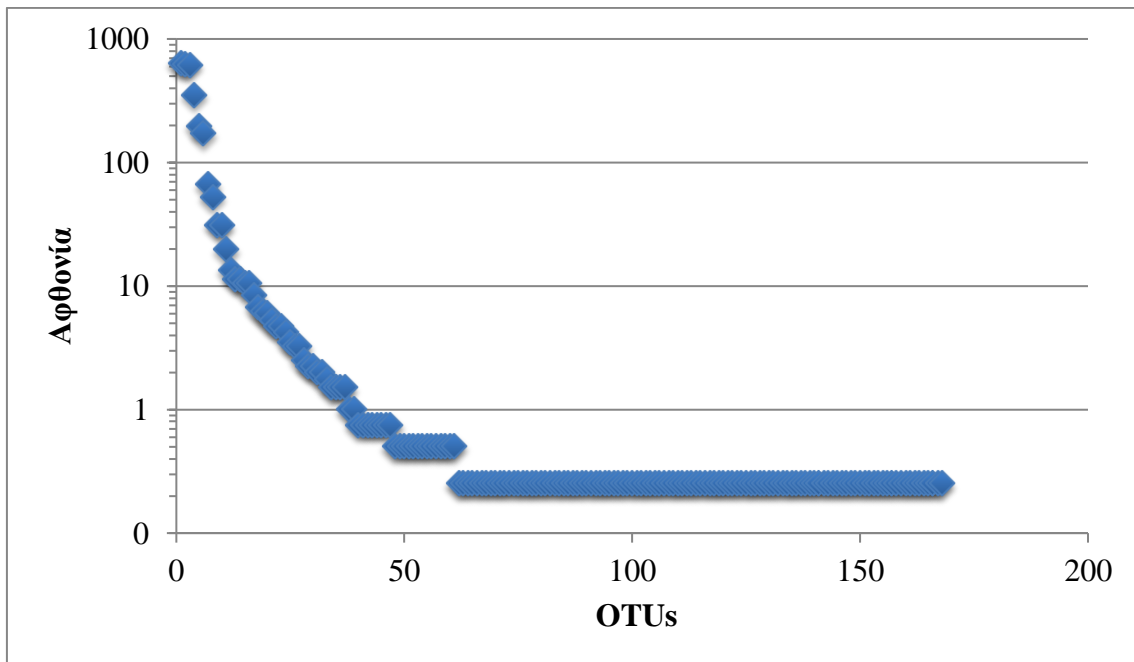
		N	F	P
<i>Tetraselmis suecica</i> Σάκοι πολυαιθυλενίου Αρχή- Τέλος	Αρχή	130	0,019	0,891
	Τέλος	141		
<i>Tetraselmis suecica</i> Φωτοβιοαντιδραστήρας Αρχή-Τέλος	Αρχή	168	1,035	0,31
	Τέλος	283		
<i>Tetraselmis suecica</i> Σάκοι πολυαιθυλενίου- Φωτοβιοαντιδραστήρας <b>Αρχή</b>	Σάκοι πολυαιθυλενίου	130	0,207	0,65
	Φωτοβιοαντιδραστήρας	168		
<i>Tetraselmis suecica</i> Σάκοι πολυαιθυλενίου- Φωτοβιοαντιδραστήρας <b>Τέλος</b>	Σάκοι πολυαιθυλενίου	141	1,705	0,192
	Φωτοβιοαντιδραστήρας	283		
<i>Tisochrysis lutea</i> Σάκοι πολυαιθυλενίου Αρχή- Τέλος	Αρχή	81	0,024	0,876
	Τέλος	94		
<i>Tisochrysis lutea</i> Φωτοβιοαντιδραστήρας Αρχή-Τέλος	Αρχή	102	0,035	0,853
	Τέλος	123		
<i>Tisochrysis lutea</i> Σάκοι πολυαιθυλενίου- Φωτοβιοαντιδραστήρας <b>Αρχή</b>	Σάκοι πολυαιθυλενίου	81	0,05	0,823
	Φωτοβιοαντιδραστήρας	102		
<i>Tisochrysis lutea</i> Σάκοι πολυαιθυλενίου- Φωτοβιοαντιδραστήρας <b>Τέλος</b>	Σάκοι πολυαιθυλενίου	94	0,084	0,773
	Φωτοβιοαντιδραστήρας	123		
<i>Tetraselmis suecica</i> - <i>Tisochrysis lutea</i> Σάκοι πολυαιθυλενίου <b>Αρχή</b>	<i>Tetraselmis suecica</i>	130	0,341	0,56
	<i>Tisochrysis lutea</i>	81		
<i>Tetraselmis suecica</i> - <i>Tisochrysis lutea</i> Σάκοι πολυαιθυλενίου <b>Τέλος</b>	<i>Tetraselmis suecica</i>	141	0,281	0,596
	<i>Tisochrysis lutea</i>	94		
<i>Tetraselmis suecica</i> - <i>Tisochrysis lutea</i> Φωτοβιοαντιδραστήρας <b>Αρχή</b>	<i>Tetraselmis suecica</i>	168	0,356	0,551
	<i>Tisochrysis lutea</i>	102		
<i>Tetraselmis suecica</i> - <i>Tisochrysis lutea</i> Φωτοβιοαντιδραστήρας <b>Τέλος</b>	<i>Tetraselmis suecica</i>	283	1,29	0,257
	<i>Tisochrysis lutea</i>	123		



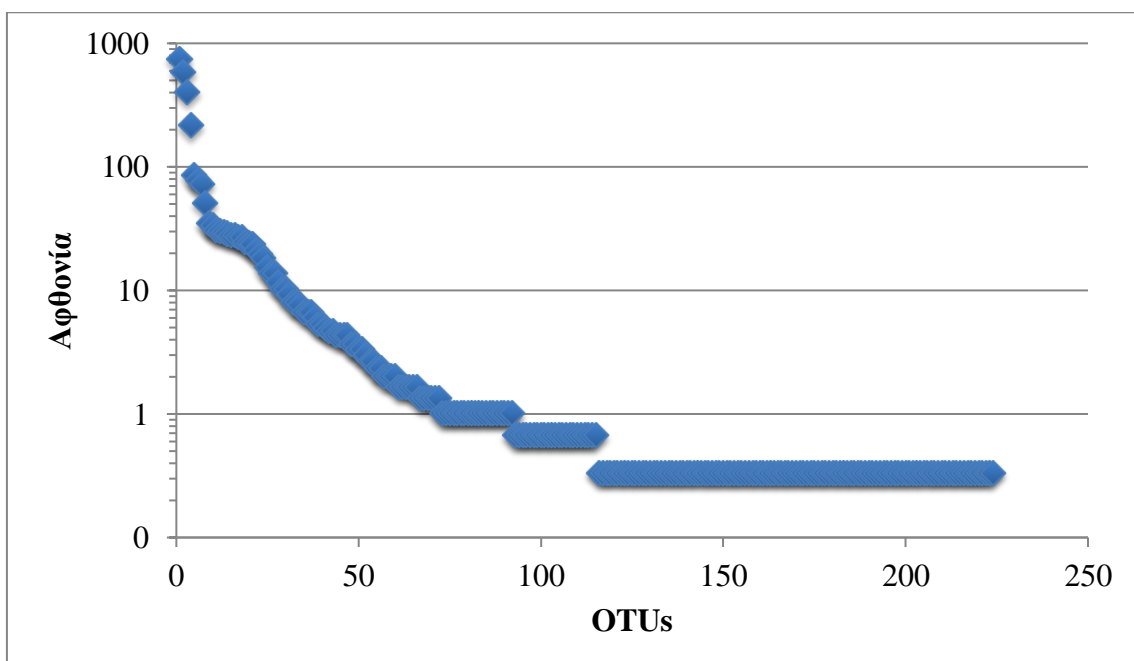
**Σχήμα 1:** Αφθονία OTUs στην αρχή της καλλιέργειας του μικροφύκου *Tetraselmis suecica* σε σάκους πολυαιθυλενίου



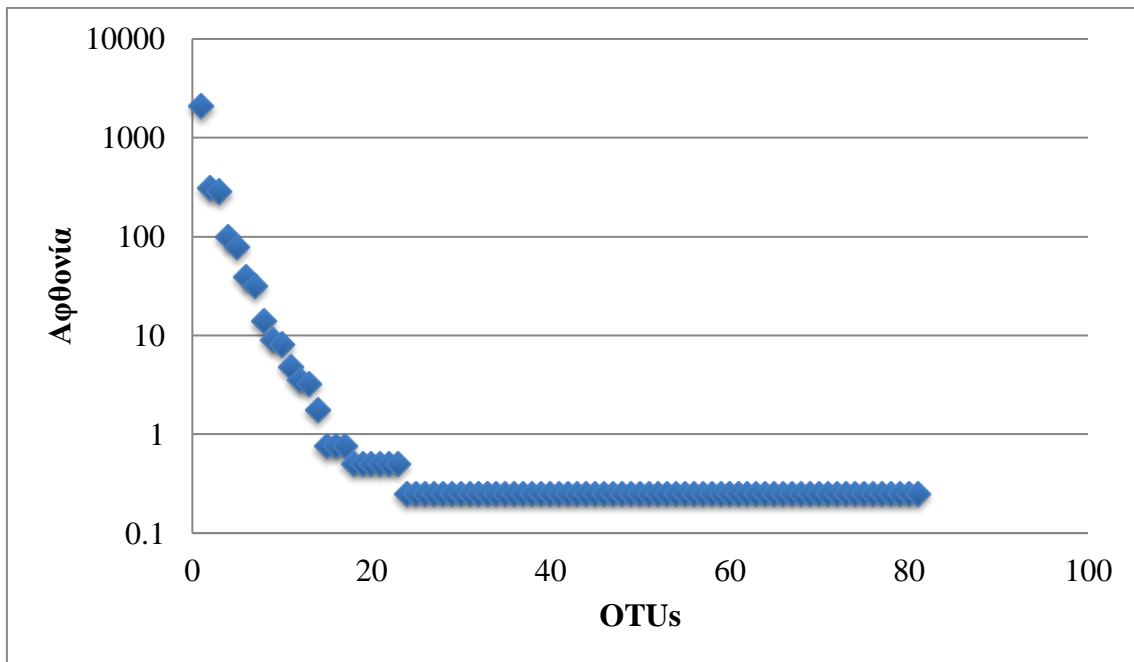
**Σχήμα 2:** Αφθονία OTUs στο τέλος της καλλιέργειας του μικροφύκου *Tetraselmis suecica* σε σάκους πολυαιθυλενίου



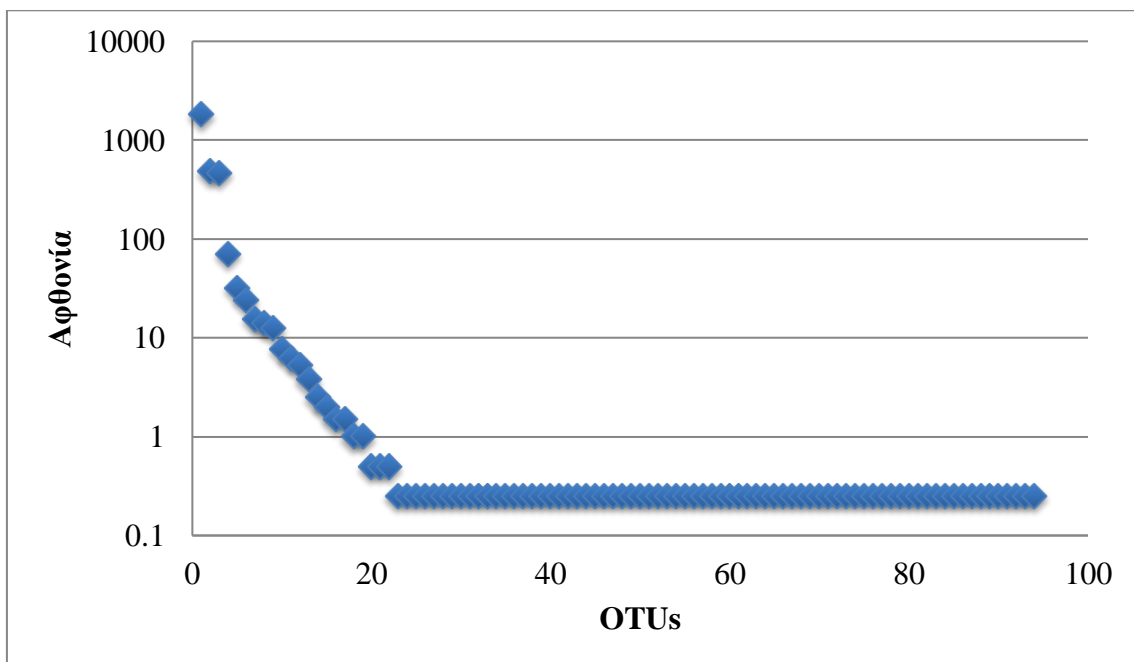
**Σχήμα 3:** Αφθονία OTUs στην αρχή της καλλιέργειας του μικροφύκου *Tetraselmis suecica* σε φωτοβιοαντιδραστήρα



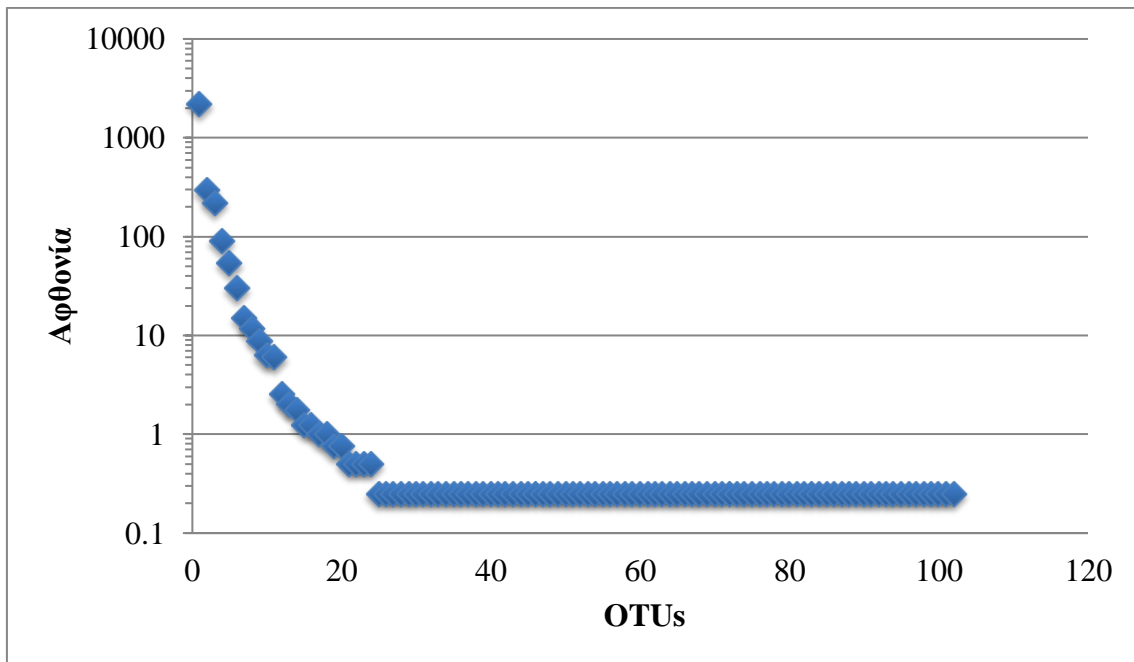
**Σχήμα 4:** Αφθονία OTUs στο τέλος της καλλιέργειας του μικροφύκου *Tetraselmis suecica* σε φωτοβιοαντιδραστήρα



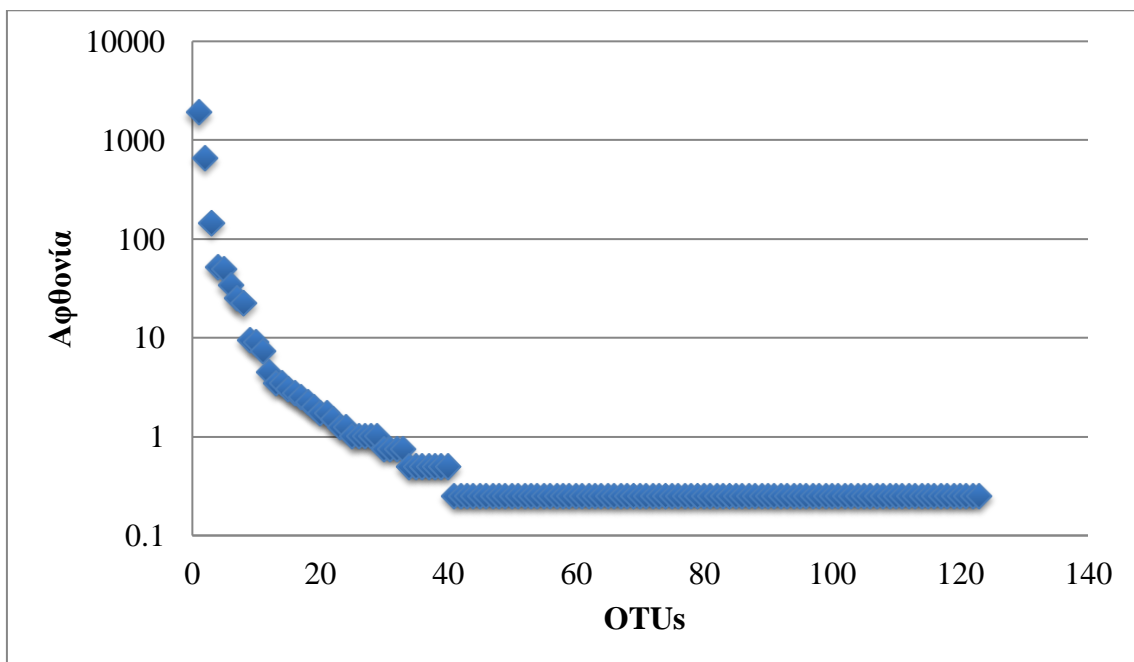
**Σχήμα 5:** Αφθονία OTUs στην αρχή της καλλιέργειας του μικροφύκου *Tisochrysis lutea* σε σάκους πολυαιθυλενίου



**Σχήμα 6:** Αφθονία OTUs στο τέλος της καλλιέργειας του μικροφύκου *Tisochrysis lutea* σε σάκους πολυαιθυλενίου



**Σχήμα 7:** Αφθονία OTUs στην αρχή της καλλιέργειας του μικροφύκου *Tisochrysis lutea* σε φωτοβιοαντιδραστήρα



**Σχήμα 8:** Αφθονία OTUs στο τέλος της καλλιέργειας του μικροφύκου *Tisochrysis lutea* σε φωτοβιοαντιδραστήρα

**Πίνακας 5:** Συγκεντρωτικός πίνακας αποτελεσμάτων T-test των καμπυλών Rank abundance

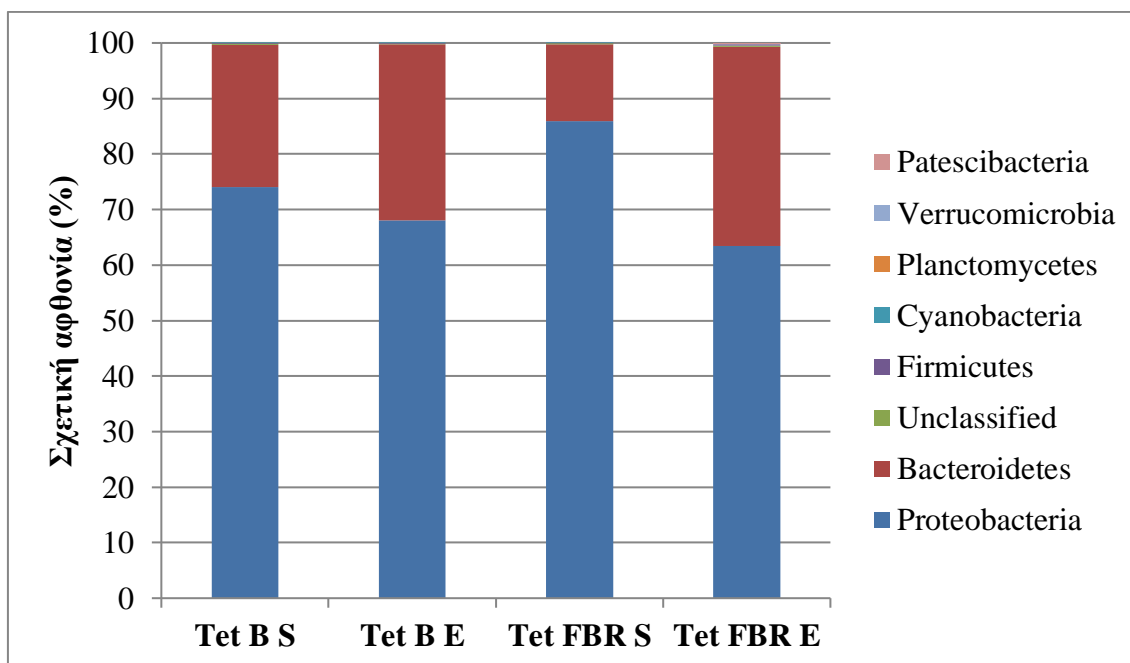
	StDev	Std Error Mean	Sign
<i>Tetraselmis suecica</i> Σάκοι πολυαιθυλενίου Αρχή-Τέλος	383,25	271	0,099
<i>Tetraselmis suecica</i> Φωτοβιοαντιδραστήρας Αρχή-Τέλος	908,63	642,5	0,228
<i>Tetraselmis suecica</i> Σάκοι πολυαιθυλενίου-Φωτοβιοαντιδραστήρας Αρχή	656,19	464	0,189
<i>Tetraselmis suecica</i> Σάκοι πολυαιθυλενίου-Φωτοβιοαντιδραστήρας Τέλος	635,68	449,5	0,147
<i>Tisochrysis lutea</i> Σάκοι πολυαιθυλενίου Αρχή-Τέλος	104,86	74,15	0,105
<i>Tisochrysis lutea</i> Φωτοβιοαντιδραστήρας Αρχή-Τέλος	86,69	61,3	0,127
<i>Tisochrysis lutea</i> Σάκοι πολυαιθυλενίου- Φωτοβιοαντιδραστήρας Αρχή	195,72	138,4	0,222
<i>Tisochrysis lutea</i> Σάκοι πολυαιθυλενίου- Φωτοβιοαντιδραστήρας Τέλος	4,17	2,95	0,005
<i>Tetraselmis suecica</i> - <i>Tisochrysis lutea</i> Σάκοι πολυαιθυλενίου Αρχή	1052,03	743,9	0,339
<i>Tetraselmis suecica</i> - <i>Tisochrysis lutea</i> Σάκοι πολυαιθυλενίου Τέλος	773,64	547,05	0,342
<i>Tetraselmis suecica</i> - <i>Tisochrysis lutea</i> Φωτοβιοαντιδραστήρας Αρχή	531,56	418,3	0,36
<i>Tetraselmis suecica</i> - <i>Tisochrysis lutea</i> Φωτοβιοαντιδραστήρας Τέλος	1413,50	999,5	0,403

Τα βακτήρια που παρατηρήθηκαν στην αρχή της καλλιέργειας του *Tetraselmis suecica* σε σάκους πολυαιθυλενίου κατατάσσονται σε 4 Φύλα, ενώ υπάρχουν και αταξινόμητα βακτήρια. Το μεγαλύτερο ποσοστό εντοπίζεται στο Φύλο Proteobacteria με ποσοστό 73,99% και αφθονότερο εκπρόσωπο το OTU0004 (29,2%), ακολουθούμενο από το Φύλο Bacreroidetes (25,66%) με εκπρόσωπο το OTU0012 (21,88%), το Firmicutes (0,08%) με εκπρόσωπο το OTU0133 (0,01%) και τέλος το Cyanobacteria (0,02%) με εκπρόσωπο το OTU0001 (0,02%), ενώ τα αταξινόμητα βακτήρια αγγίζουν



το ποσοστό των 0,22% με κύριο εκπρόσωπο το OTU0064 (0,12%). Στο τέλος της καλλιέργειας τα βακτήρια κατατάσσονται σε 4 Φύλα, με πολυπληθέστερο το Φύλο Proteobacteria με ποσοστό 68,1% και κύριο εκπρόσωπο το OTU0004 (27,53%). Το Φύλο Bacteroidetes εμφανίζει ποσοστό 31,66%, με το OTU007 (22,22%) ως κύριο εκπρόσωπο, το Firmicutes με ποσοστό 0,05% και εκπρόσωπο το OTU0634 (0,02%) και το Cyanobacteria με ποσοστό 0,04% και εκπρόσωπο το OTU0001 (0,04%). Τα αταξινόμητα βακτήρια αριθμούν το 0,13% με κύριο το OTU0122 (0,06%).

Τα βακτήρια που παρατηρήθηκαν στην αρχή της καλλιέργειας του *Tetraselmis suecica* σε φωτοβιοαντιδραστήρα κατατάσσονται σε 4 Φύλα, ενώ υπάρχουν και αταξινόμητα βακτήρια. Το Φύλο Proteobacteria εμφανίζεται ως πιο άφθονο με ποσοστό 85,87% και κύριο εκπρόσωπο το OTU0006 (21,4%), ακολουθούμενο από το Bacteroidetes (13,91%) με το OTU0007 (11,79%), το Firmicutes (0,05%) με το OTU0114 (0,01%) και το Cyanobacteria (0,008%) με το OTU0001 (0,008%). Τα αταξινόμητα βακτήρια ανέρχονται στο 0,14% με κύριο εκπρόσωπο το OTU0064 (0,07%). Κατά το τέλος της καλλιέργειας τα βακτήρια κατατάσσονται σε 6 Φύλα, με το Proteobacteria να εμφανίζει την μεγαλύτερη αφθονία (63,43%) και κύριο εκπρόσωπο το OTU0006 (19,83%). Ακολουθούν το Bacteroidetes (35,83%) με το OTU0007 (25,15%), το Firmicutes (0,23%) με το OTU0145 (0,03%), το Patescibacteria (0,11%) με το OTU0205 (0,08%), το Planctomycetes (0,07%) με το OTU0179 (0,03%) και το Verrucomicrobia (0,03%) με το OTU0112 (0,01%). Τα αταξινόμητα βακτήρια που εντοπίστηκαν αριθμούν το 0,26% με κύριο εκπρόσωπο το OTU0064 (0,04%) (Σχήμα 9).

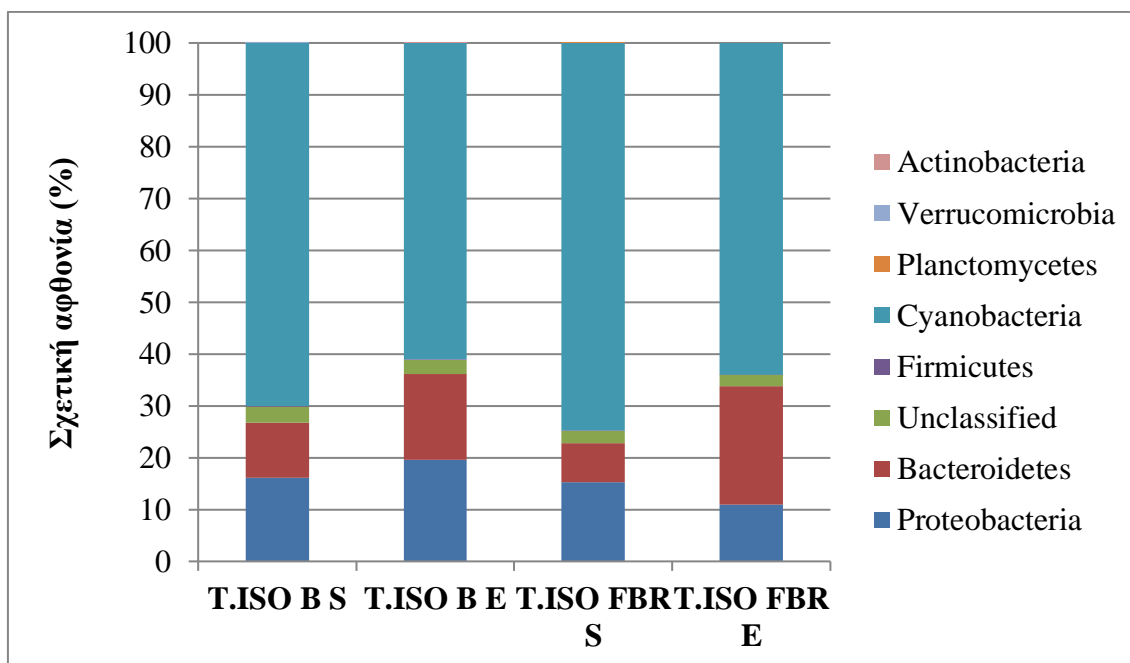


**Σχήμα 9:** Ταξινόμηση των βακτηρίων ανά Φύλο στις μεταχειρίσεις του μικροφύκου *Tetraselmis suecica* (όπου Tet B S: Αρχή καλλιέργειας *Tetraselmis suecica* σε σάκους πολυαιθυλενίου, Tet B E: Τέλος καλλιέργειας *Tetraselmis suecica* σε σάκους πολυαιθυλενίου, Tet FBR S: Αρχή καλλιέργειας *Tetraselmis suecica* σε φωτοβιοαντιδραστήρα, Tet FBR E: Τέλος καλλιέργειας *Tetraselmis suecica* σε φωτοβιοαντιδραστήρα)

Κατά την αρχή της καλλιέργειας του μικροφύκου *Tisochrysis lutea* σε σάκους πολυαιθυλενίου τα βακτήρια που παρατηρήθηκαν εντάσσονται σε 5 Φύλα. Το Φύλο Cyanobacteria κατέχει το μεγαλύτερο ποσοστό (70,01%) με πιο άφθονο το OTU0001 (69,68%), ακολουθούμενο από το Proteobacteria (16,07%) με το OTU0003 (9,54%), το Bacteroidetes (10,72%) με το OTU0002 (10,27%), το Firmicutes (0,08%) με το OTU0143 (0,02%) και το Verrucomicrobia (0,008%) με το OTU0112 (0,008%). Παρατηρήθηκαν επίσης αταξινόμητα βακτήρια με ποσοστό 3,09% και πιο άφθονο το OTU0008 (2,63%). Κατά το τέλος της ίδιας καλλιέργειας τα βακτήρια εντάσσονται επίσης σε 5 Φύλα. Το Φύλο Cyanobacteria κατέχει το μεγαλύτερο ποσοστό (61,07%) με πιο άφθονο το OTU0001 (60,8%), ακολουθούμενο από το Proteobacteria (19,53%) με το OTU0003 (15,62%), το Bacteroidetes (16,54%) με το OTU0002 (16,19%), το

Firmicutes (0,02%) με το OTU0097 (0,008%) και το Actinobacteria (0,008%) με το OTU0648 (0,008%). Παρατηρήθηκαν επίσης αταξινόμητα βακτήρια με ποσοστό 2,81% και πιο άφθονο το OTU0008 (2,34%).

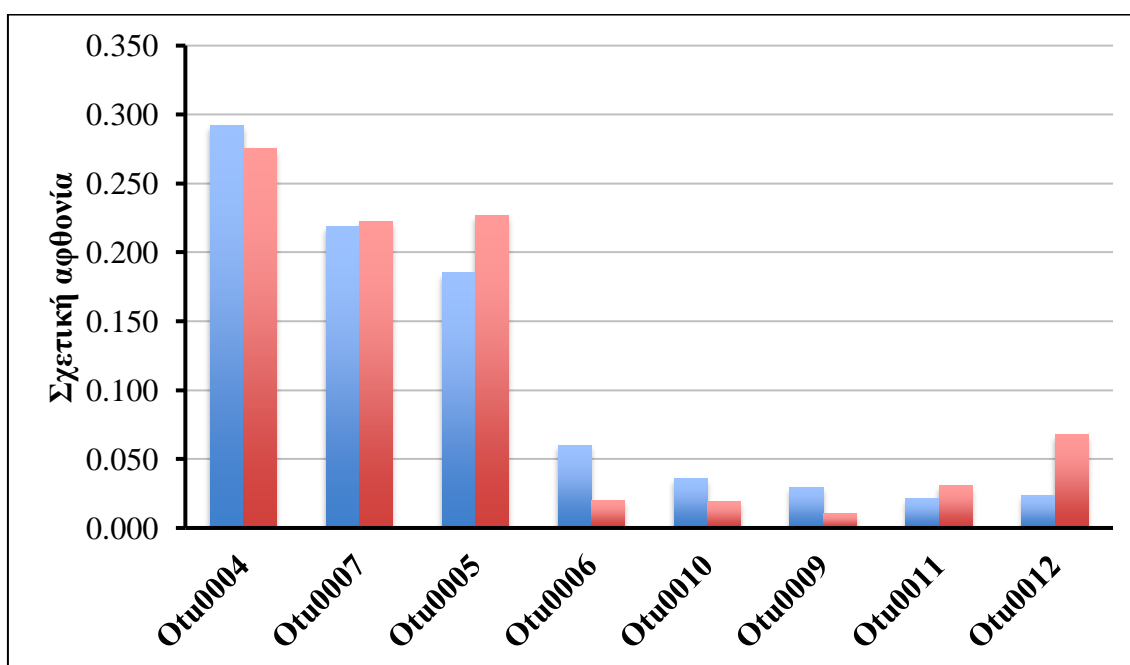
Τα βακτήρια που εντοπίστηκαν στην αρχή της καλλιέργειας του μικροφύκου *Tisochrysis lutea* σε φωτοβιοαντιδραστήρα εντάσσονται σε 5 Φύλα. Το Φύλο Cyanobacteria παρουσιάζει τα μεγαλύτερο ποσοστό (74,68%) με αφθονότερο εκπρόσωπο το OTU0001 (74,24%), ακολουθούμενο από το Proteobacteria (15,29%) με το OTU0003 (9,86%), το Bacteroidetes (7,48%) με το OTU0002 (7,29%), το Firmicutes (0,13%) με το OTU0097 (0,04%) και το Plactomycetes (0,008%) με το OTU0780 (0,008%). Επίσης εντοπίστηκαν αταξινόμητα βακτήρια που αριθμούν το 2,39% με πιο άφθονο το OTU0008 (1,8%). Κατά το τέλος της καλλιέργειας τα βακτήρια εντάσσονται σε 4 Φύλα. Το Φύλο Cyanobacteria παρουσιάζει τα μεγαλύτερο ποσοστό (63,79%) με αφθονότερο εκπρόσωπο το OTU0001 (63,63%), ακολουθούμενο από το Bacteroidetes (22,84%) με το OTU0002 (22,29%), το Proteobacteria (10,95%) με το OTU0003 (4,92%) και το Firmicutes (0,06%) με το OTU0127 (0,01%). Επίσης εντοπίστηκαν αταξινόμητα βακτήρια που αριθμούν το 2,16% με πιο άφθονο το OTU0008 (1,76%) (Σχήμα 10).



**Σχήμα 10:** Ταξινόμηση των βακτηρίων ανά Φύλο στις μεταχειρίσεις του μικροφύκου *Tisochrysis lutea* (όπου T.ISO B S: Αρχή καλλιέργειας *Tisochrysis lutea* σε σάκους πολυαιθυλενίου, T.ISO B E: Τέλος καλλιέργειας *Tisochrysis lutea* σε σάκους πολυαιθυλενίου, T.ISO FBR S: Αρχή καλλιέργειας *Tisochrysis lutea* σε φωτοβιοαντιδραστήρα, T.ISO FBR E: Τέλος καλλιέργειας *Tisochrysis lutea* σε φωτοβιοαντιδραστήρα)

Η αφθονία των βακτηρίων διαμορφώνεται ως εξής για το μικροφύκος *Tetraselmis suecica*. Στην αρχή της καλλιέργειας σε σάκους πολυαιθυλενίου τα αφθονότερα βακτήρια εντοπίζονται σε 6 OTUs. Πιο συγκεκριμένα, το OTU0004 είναι το πιο άφθονο με ποσοστό 29,2%, ακολουθούμενο από το OTU0007 (21,9%), OTU0005 (18,5%), OTU0006 (6%), OTU0010 (3,6%) και OTU0009 (2,9%). Στο τέλος της καλλιέργειας σε σάκους πολυαιθυλενίου τα αφθονότερα βακτήρια εντοπίζονται σε 5 OTUs, με το OTU0004 να είναι το πιο άφθονο (27,5%), ακολουθούμενο από το OTU0005 (22,7%), OTU0007 (22,2%), OTU0012 (6,8%) και OTU0011 (3,1%). Το τέλος της καλλιέργειας παρουσιάζει περισσότερα OTUs από ότι η αρχή, ενώ υπάρχουν και διαφορές στη σύνθεση των πληθυσμών των βακτηρίων. Το OTU0004 παραμένει κυρίαρχο και στην αρχή και στο τέλος της καλλιέργειας, αλλά στο τέλος φαίνεται να

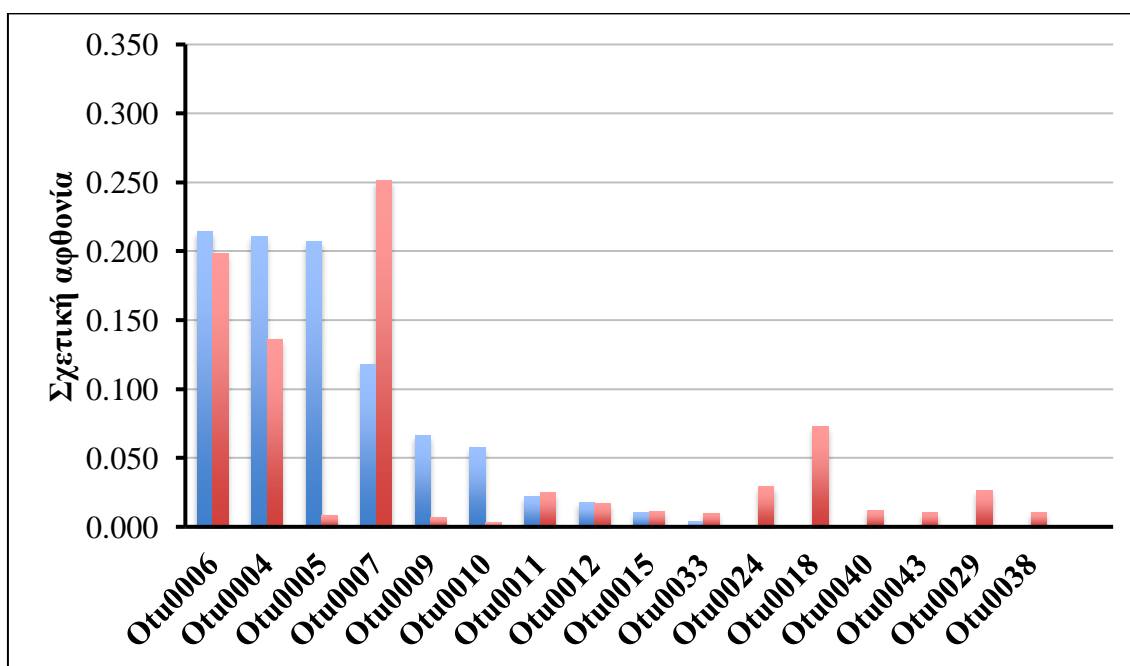
μειώνεται η αφθονία του σχετικά με την αρχή, ενώ αντίθετα το OTU0005 φαίνεται να ευνοείται στο τέλος από ότι στην αρχή. Επίσης η σύνθεση των κυρίαρχων βακτηρίων φαίνεται να μεταβάλλεται από την αρχή προς το τέλος της καλλιέργειας, καθώς τα OTU0006, OTU0009 και OTU0010 παρότι παρουσιάζονται στην αρχή, δεν συμμετέχουν στα κυρίαρχα βακτήρια στο τέλος και αντίστροφα τα OTU0011 και OTU0012 εντοπίζονται στα κυρίαρχα στο τέλος και φαίνεται να ευνοούνται. Το OTU0007 δεν φαίνεται να επηρεάζεται κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας και παρουσιάζει παρόμοιες τιμές αφθονίας (Σχήμα 11).



**Σχήμα 11:** Σχετική αφθονία των κυρίαρχων OTUs στην αρχή και το τέλος της καλλιέργειας του μικροφύκου *Tetraselmis suecica* σε σάκους πολυαιθυλενίου. Με μπλε απεικονίζεται η αρχή της καλλιέργειας και με κόκκινο το τέλος της

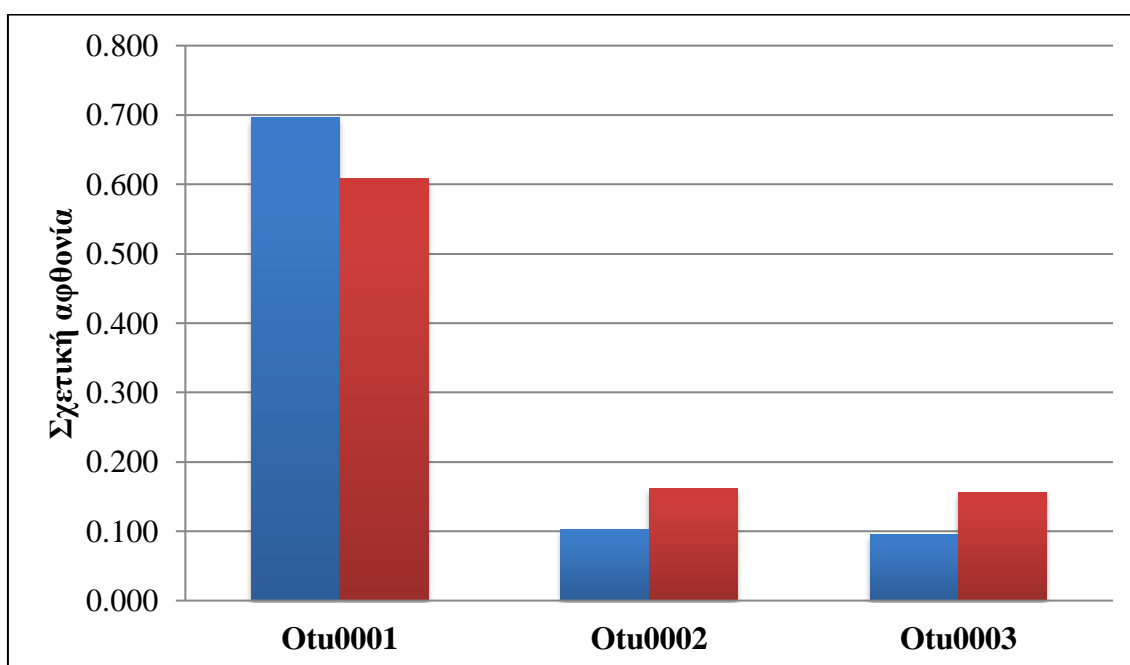
Όσον αφορά την καλλιέργεια του μικροφύκου *Tetraselmis suecica* σε φωτοβιοαντιδραστήρες, στην αρχή της καλλιέργειας τα κυρίαρχα βακτήρια εντοπίζονται σε 5 OTUs, με αφθονότερο το OTU0006 (21,4%), ακολουθούμενο από το OTU0004 (21,1%), OTU0005 (20,7%), OTU0007 (11,8%) και OTU0009 (6,6%). Στο

τέλος της καλλιέργειας ο αριθμός των κυρίαρχων βακτηρίων ανέρχεται στα 13 OTUs, με αφθονότερο το OTU0007 (25,2%), ακολουθούμενο από το OTU0006 (19,8%), OTU0004 (13,6%), OTU0018 (7,3%), OTU0024 (2,9%), OTU0029 (2,6%), OTU0011 (2,5%), OTU0012 (1,7%), OTU0040 (1,2%), OTU0015 (1,1%), OTU0038 (1%), OTU0043 (1%) και OTU0033 (1%). Με το πέρας της καλλιέργειας φαίνεται να ευνοούνται περισσότερα OTUs από ότι στην αρχή και η σύνθεση των πληθυσμών μεταβάλλεται αρκετά. Στο τέλος της καλλιέργειας το OTU0007 έχει κυρίαρχη θέση, ενώ το OTU0006 φαίνεται να έχει μικρότερη συγκέντρωση σε σχέση με την αρχή. Επίσης τα OTU0005 και OTU0009, ενώ ανήκουν στα πιο άφθονα βακτήρια στην αρχή, φαίνεται ότι στο τέλος δεν ευνοούνται. Κατά την αρχή της καλλιέργειας τα OTU0004, OTU0005 και OTU0006 παρουσιάζουν παρόμοια αφθονία (Σχήμα 12).



**Σχήμα 12:** Σχετική αφθονία των κυρίαρχων OTUs στην αρχή και το τέλος της καλλιέργειας του μικροφύκου *Tetraselmis suecica* σε φωτοβιοαντιδραστήρα. Με μπλε απεικονίζεται η αρχή της καλλιέργειας και με κόκκινο το τέλος της

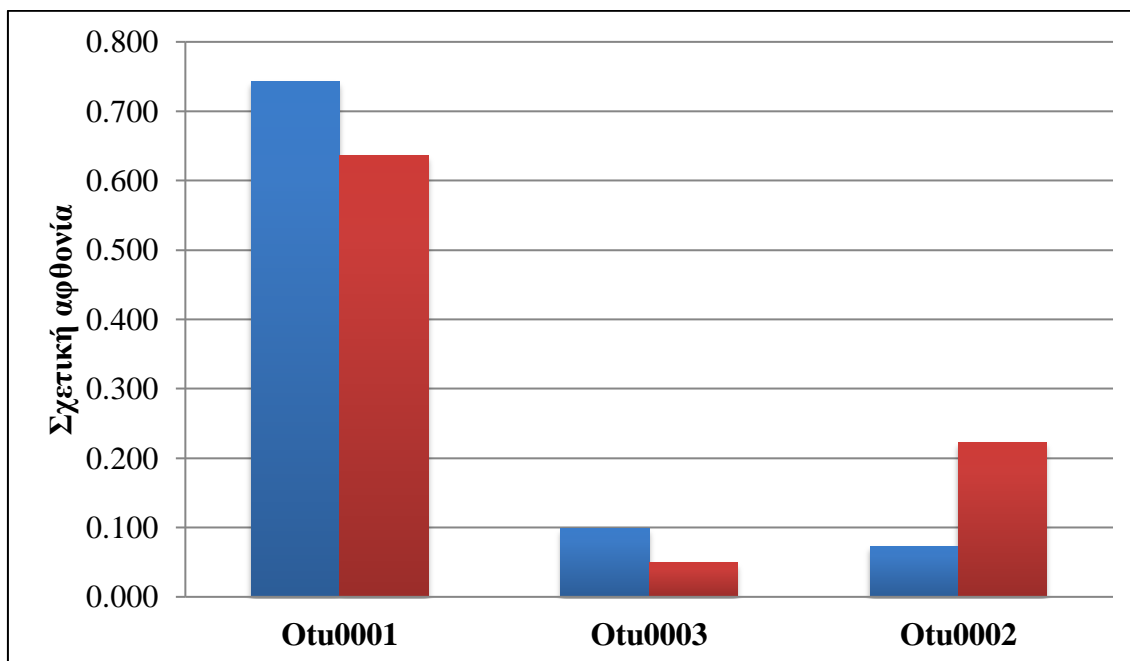
Η καλλιέργεια του μικροφύκου *Tisochrysis lutea* σε σάκους πολυαιθυλενίου παρουσίασε στην αρχή και στο τέλος 3 συγκεκριμένα OTUs. Πιο συγκεκριμένα, το OTU0001 είναι κυρίαρχο και στην αρχή (69,6%) και στο τέλος (60,8%), με την διαφορά ότι στην αρχή η αφθονία του είναι υψηλότερη. Στη συνέχεια ακολουθείται με από το OTU0002, το οποίο στην αρχή παρουσιάζει ποσοστό 10,2%, ενώ στο τέλος 16,1% και το OTU0003, το οποίο παρουσιάζει ποσοστό στην αρχή 9,5%, ενώ στο τέλος 15,6%. Φαίνεται ότι τα OTU0002 και OTU0003 ευνοούνται περισσότερο κατά το τέλος της καλλιέργειας, από ότι στην αρχή της (Σχήμα 13).



**Σχήμα 13:** Σχετική αφθονία των κυρίαρχων OTUs στην αρχή και το τέλος της καλλιέργειας του μικροφύκου *Tisochrysis lutea* σε σάκους πολυαιθυλενίου. Με μπλε απεικονίζεται η αρχή της καλλιέργειας και με κόκκινο το τέλος της

Κατά την καλλιέργεια του μικροφύκου *Tisochrysis lutea* σε φωτοβιοαντιδραστήρα το OTU0001 είναι κυρίαρχο και στην αρχή (74,2%) και στο τέλος (63,6%) της καλλιέργειας, εμφανίζοντας μεγαλύτερη αφθονία κατά την αρχή. Επιπλέον στην αρχή και το τέλος της καλλιέργειας παρουσιάζονται 2 OTUs που

σχηματίζουν την μεγαλύτερη αφθονία. Στην αρχή το OTU0001 ακολουθείται από το OTU0003 (9,8%), ενώ στο τέλος από το OTU0002 (22,2%) (Σχήμα 14).



**Σχήμα 14:** Σχετική αφθονία των κυρίαρχων OTUs στην αρχή και το τέλος της καλλιέργειας του μικροφύκου *Tisochrysis lutea* σε φωτοβιοαντιδραστήρα. Με μπλε απεικονίζεται η αρχή της καλλιέργειας και με κόκκινο το τέλος της

Το βακτηριακό φορτίο στην αρχή της καλλιέργειας του μικροφύκου *Tetraselmis suecica* σε φωτοβιοαντιδραστήρα (168 OTUs) παρουσιάζει μεγαλύτερη αφθονία ειδών από την καλλιέργειά του σε σάκους πολυαιθυλενίου (130 OTUs). Ωστόσο η κυριαρχία των ειδών διαμορφώνεται με περισσότερα είδη στους σάκους (6 OTUs: OTU0004, OTU0007, OTU0005, OTU0006, OTU0010 και OTU0009) από τον φωτοβιοαντιδραστήρα (5 OTUs: OTU0006, OTU0004, OTU0005, OTU0007 και OTU0009). Πιο άφθονο βακτήριο στους σάκους εμφανίζεται το OTU0004, ενώ στον φωτοβιοαντιδραστήρα το OTU0006. Το OTU0010 το οποίο συναντάται στην κυριαρχία των βακτηρίων στους σάκους, απουσιάζει από αυτήν στο φωτοβιοαντιδραστήρα, ενώ τα OTU0004 και OTU0007 που συναντώνται και στους δύο τρόπους καλλιέργειας,



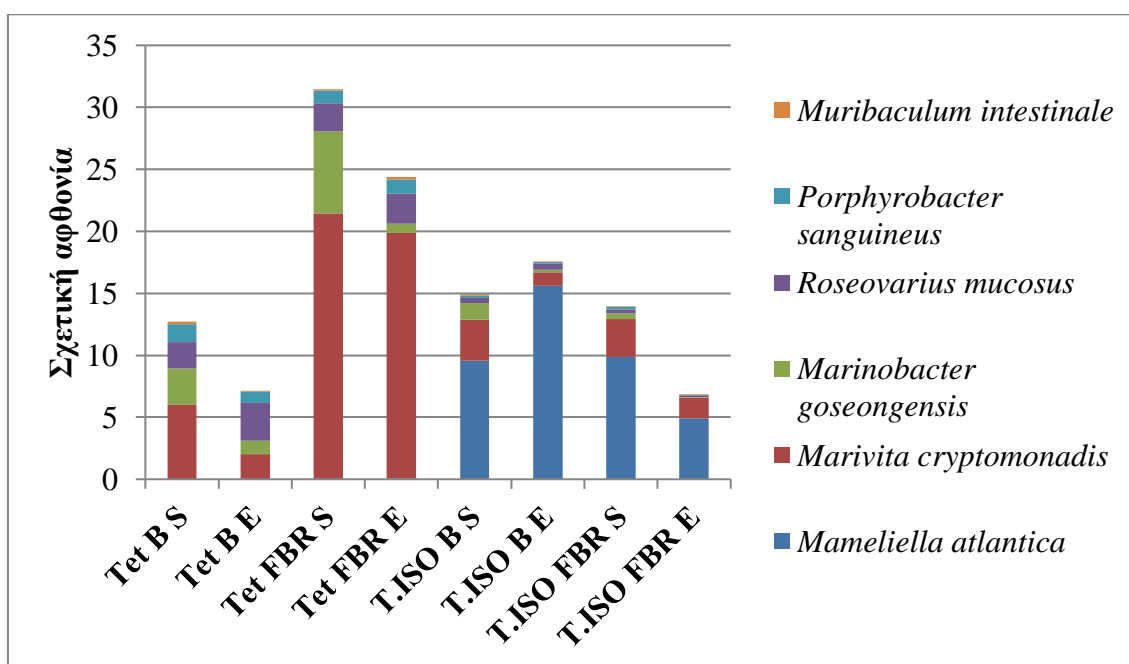
έχουν μικρότερη σχετική αφθονία στο φωτοβιοαντιδραστήρα από ότι στους σάκους. Τα OTU0005, OTU0006 και OTU0009 φαίνεται να ευνοούνται περισσότερο στο φωτοβιοαντιδραστήρα. Κατά το τέλος της καλλιέργειας ο φωτοβιοαντιδραστήρας εξακολουθεί να παρουσιάζει περισσότερα OTUs (224 OTUs), σε σχέση με τους σάκους πολυαιθυλενίου (141 OTUs). Η κυριαρχία διαμορφώνεται με περισσότερα είδη στον φωτοβιοαντιδραστήρα (13 OTUs: OTU0007, OTU0006, OTU0004, OTU0018, OTU0024, OTU0029, OTU0011, OTU0012, OTU0040, OTU0015, OTU0038, OTU0043 και OTU0033) από ότι στους σάκους (5 OTUs: OTU0004, OTU0005, OTU0007, OTU0012 και OTU0011). Τα OTU0007 και OTU0011 φαίνεται να ευνοούνται στον φωτοβιοαντιδραστήρα σε σχέση με τους σάκους, ενώ αντίθετα το OTU0005 αν και ανήκει στα πιο άφθονα βακτήρια στους σάκους, δεν φαίνεται να ισχύει το ίδιο και για τον φωτοβιοαντιδραστήρα.

Το βακτηριακό φορτίο στην αρχή της καλλιέργειας του μικροφύκου *Tisochrysis lutea* σε φωτοβιοαντιδραστήρα (102 OTUs) παρουσιάζει μεγαλύτερη αφθονία ειδών από την καλλιέργειά του σε σάκους πολυαιθυλενίου (81 OTUs). Ωστόσο κυρίαρχο βακτήριο και στους δύο τρόπους καλλιέργειας είναι το OTU0001. Η κυριαρχία των ειδών διαμορφώνεται με 3 OTUs στην περίπτωση των σάκων (OTU0001, OTU0002 και OTU0003), ενώ με 2 OTUs στην περίπτωση του φωτοβιοαντιδραστήρα (OTU0001 και OTU0003). Το OTU0001 παρουσιάζει υψηλότερη σχετική αφθονία στον φωτοβιοαντιδραστήρα, το OTU0003 φαίνεται να έχει παρόμοια σχετική αφθονία και με τους δύο τρόπους καλλιέργειας, ενώ το OTU0002 εμφανίζεται στην κυριαρχία μόνο των σάκων πολυαιθυλενίου. Κατά το τέλος της καλλιέργειας ο φωτοβιοαντιδραστήρας εξακολουθεί να παρουσιάζει περισσότερα OTUs (123 OTUs), σε σχέση με τους σάκους πολυαιθυλενίου (94 OTUs). Η κυριαρχία

διαμορφώνεται με περισσότερα είδη στους σάκους πολυαιθυλενίου (3 OTUs: OTU0001, OTU0002 και OTU0003) από ότι στο φωτοβιοαντιδραστήρα (2 OTUs: OTU0001 και OTU0002). Τα OTU0001 και OTU0002 εμφανίζουν υψηλότερη σχετική αφθονία στον φωτοβιοαντιδραστήρα σε σχέση με τους σάκους, ενώ το OTU0003 αν και ανήκει στα πιο άφθονα βακτήρια στους σάκους, δεν φαίνεται να ισχύει το ίδιο και για τον φωτοβιοαντιδραστήρα.

Μεταξύ των μεταχειρίσεων εντοπίστηκαν κοινά βακτήρια. Πιο συγκεκριμένα στην καλλιέργεια του *Tetraselmis suecica* σε σάκους πολυαιθυλενίου στην αρχή και στο τέλος της εντοπίστηκαν 52 κοινά OTUs, ενώ στην καλλιέργεια σε φωτοβιοαντιδραστήρα στην αρχή και στο τέλος τα κοινά OTUs αριθμούν τα 63. Συγκρίνοντας την αρχή της καλλιέργειας του ίδιου μικροφύκους σε σάκους και φωτοβιοαντιδραστήρα εντοπίζονται 47 OTUs κοινά, ενώ συγκριτικά στο τέλος της καλλιέργειας με τους δύο παραπάνω τρόπους τα κοινά OTUs αριθμούν τα 42. Όσον αφορά την καλλιέργεια του μικροφύκους *Tisochrysis lutea* σε σάκους πολυαιθυλενίου κατά την αρχή και το τέλος αυτής, εντοπίζονται 21 OTUs κοινά, ενώ κατά την καλλιέργεια του ίδιου μικροφύκους σε φωτοβιοαντιδραστήρα τα κοινά OTUs αριθμούν τα 25 στην αρχή και στο τέλος αυτής. Συγκρίνοντας την αρχή της καλλιέργειας του παραπάνω μικροφύκους σε σάκους και φωτοβιοαντιδραστήρα, συναντώνται 22 OTUs κοινά, ενώ στο τέλος 21 κοινά OTUs. Συγκρίνοντας τα δύο μικροφύκη στην αρχή της καλλιέργειάς τους σε σάκους πολυαιθυλενίου τα κοινά OTUs ανέρχονται στα 13, ενώ στο τέλος στα 11. Παράλληλα στην αρχή της καλλιέργειάς τους σε φωτοβιοαντιδραστήρα εντοπίζονται 21 κοινά OTUs, ενώ στο τέλος αυτής 33 κοινά OTUs. Συνολικά τα κοινά OTUs σε όλες τις μεταχειρίσεις είναι τα OTU0003, OTU0006, OTU0009, OTU0011, OTU0015 και OTU0032 (Σχήμα 15). Μία πιο

προσεκτική παρατήρηση στα κοινά βακτήρια που βρέθηκαν σε όλες τις μεταχειρίσεις παρατηρείται ότι πέντε (5) από τα έξι (6) ανήκουν στα Proteobacteria με τα OTU0003, OTU0006, OTU0011, OTU0015 να ανήκουν α-Proteobacteria και το OTU0009 στα γ-Proteobacteria, ενώ το OTU0032 ανήκει στο Φύλο Bacteroidetes. Από αυτά που ανήκουν στα α-Proteobacteria, τα περισσότερα ανήκουν στην Οικογένεια Rhodobacteraceae, εκτός του OTU0015.



**Σχήμα 15:** Αφθονία κοινών βακτηρίων σε όλες τις μεταχειρίσεις (όπου Tet B S: Αρχή καλλιέργειας *Tetraselmis suecica* σε σάκους πολυαιθυλενίου, Tet B E: Τέλος καλλιέργειας *Tetraselmis suecica* σε σάκους πολυαιθυλενίου, Tet FBR S: Αρχή καλλιέργειας *Tetraselmis suecica* σε φωτοβιοαντιδραστήρα, Tet FBR E: Τέλος καλλιέργειας *Tetraselmis suecica* σε φωτοβιοαντιδραστήρα, T.ISO B S: Αρχή καλλιέργειας *Tisochrysis lutea* σε σάκους πολυαιθυλενίου, T.ISO B E: Τέλος καλλιέργειας *Tisochrysis lutea* σε σάκους πολυαιθυλενίου, T.ISO FBR S: Αρχή καλλιέργειας *Tisochrysis lutea* σε φωτοβιοαντιδραστήρα, T.ISO FBR E: Τέλος καλλιέργειας *Tisochrysis lutea* σε φωτοβιοαντιδραστήρα)

Η ταξινομική κατάταξη σύμφωνα με την αντιστοιχία ( $\geq 97\%$ ) του BLAST οδήγησε στον παρακάτω Πίνακα (Πίνακας 6).

**Πίνακας 6:** Αντιστοιχία OTUs με πιθανότερα είδη βακτηρίων

<b>OTU</b>	<b>Είδος</b>	<b>Q (%)</b>	<b>E value</b>	<b>Identity (%)</b>
OTU0001	<i>Gloeotheca membranacea strain PCC 6501</i>	91	7E-129	89
OTU0002	<i>Kordia aquimaris strain CC-AMZ-301</i>	100	0,0	97
OTU0003	<i>Mameliella atlantica strain MCCC 1A07531</i>	100	0,0	99
OTU0004	<i>Nioella nitratireducens strain SSW136</i>	100	0,0	98
OTU0005	<i>Roseibacterium beibuensis strain JLT1202r</i>	100	0,0	98
OTU0006	<i>Marivita cryptomonadis strain CL-SK44</i>	100	0,0	99
OTU0007	<i>Marixanthomonas ophiurae strain KMM 3046</i>	100	0,0	97
OTU0009	<i>Marinobacter goseongensis strain En6</i>	100	0,0	99
OTU0010	<i>Oceanicaulis stylophorae strain GISW-4</i>	100	2E-168	93
OTU0011	<i>Roseovarius mucosus strain DFL-24</i>	100	0,0	99
OTU0012	<i>Psychroserpens mesophilus strain KOPRI 13649</i>	100	0,0	99
OTU0015	<i>Porphyrobacter sanguineus strain NBRC 15763</i>	100	0,0	100
OTU0018	<i>Sulfitobacter dubius strain LMG20555</i>	100	0,0	99

OTU0024	<i>Thioclava nitratreducens</i> strain 25B10_4	100	0,0	100
OTU0029	<i>Lishizhenia tianjinensis</i> strain H6	100	1E-141	89
OTU0032	<i>Muribaculum intestinale</i> strain YL27	100	3E-158	91
OTU0033	<i>Marivita litorea</i> strain CL-JM1	84	1E-170	99
OTU0038	<i>Oceanicola nitratreducens</i> strain JLT1210	100	0,0	99
OTU0040	<i>Donghicola tyrosinivorans</i> strain 19-93-B1	100	0,0	96
OTU0043	<i>Labrenzia aggregata</i> strain NBRC 16684	100	0,0	99

## 4.ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Κατά την ολοκλήρωση της πειραματικής διαδικασίας οι λειτουργικές ταξινομικές μονάδες (OTUs) που βρέθηκαν στις περιπτώσεις των φωτοβιοαντιδραστήρων υπερέβαιναν αυτές των σάκων πολυαιθυλενίου, όμως η αφθονία αυτή συνοδεύεται από χαμηλή ισομέρεια. Επίσης περισσότερα OTUs εντοπίζονται στο τέλος κάθε μεταχείρισης σε σύγκριση με την αρχή της. Ακόμα, περισσότερα OTUs φαίνεται να συγκεντρώνει η καλλιέργεια του μικροφύκου *Tetraselmis suecica* από το μικροφύκος *Tisochrysis lutea*, με το δεύτερο να παρουσιάζει μειωμένη ισομέρεια σε σχέση με το πρώτο.

Στο θαλάσσιο υδάτινο περιβάλλον η αφθονία των βακτηρίων που ανήκουν στην Οικογένεια *Rhodobacteraceae* είναι μεγάλη (Buchan et al. 2005), γεγονός που εξηγεί την εμφανή ύπαρξή τους στον σχηματισμό των κυρίαρχων βακτηρίων στις μεταχειρίσεις του μικροφύκου *Tetraselmis suecica*. Πιο συγκεκριμένα το OTU0004, το οποίο σχετίζεται με το είδος *Nioella nitratreducens* ανήκει στην Οικογένεια *Rhodobacteraceae* που μελετήθηκε προγενέστερα στα επιφανειακά θαλάσσια ύδατα των νήσων Αζόρες (Rajasabapathy et al. 2015). Το συγκεκριμένο βακτήριο είναι αερόβιο και συμμετέχει την μετατροπή των νιτρικών σε νιτρώδη. Κατά τους ίδιους συγγραφείς το εύρος θερμοκρασίας αύξησης είναι 10°-37°C, ενώ το pH είναι 6-8. Το OTU0005 που αντιστοιχεί στο είδος *Roseibacterium beibuensis*, ανήκει επίσης στην ίδια Οικογένεια, είναι αερόβιο, θετικό για μείωση των νιτρικών στο θαλάσσιο περιβάλλον και μπορεί να αυξηθεί ακόμα και χωρίς την ύπαρξη του NaCl (Mao et al. 2012). Ο εντοπισμός του έγινε από τους Mao et al. (2012) στα επιφανειακά ύδατα του Κόλπου Beibu στη Νότια Θάλασσα της Κίνας και η αύξησή του πραγματοποιείται στους 15°-43° C με pH 6,5-9,5. Ομοίως το OTU0006 αντιστοιχεί στο *Marivita*

*cryptomonadis*, το οποίο εντοπίστηκε στην καλλιέργεια του θαλάσσιου φυτοπλαγκτού *Cryptomonas sp.* (Hwang et al. 2009) αλλά και στο δινομαστιγωτό *Cochlodinium polykrikoies* στην παράκτια θαλάσσια περιοχή νότια της Κορέας (Park et al. 2017). Κατά τους Hwang et al. (2009), η αύξηση του επιτυγχάνεται στους 15°-35°C και με pH 6-10, ενώ απαραίτητη κρίνεται η ύπαρξη και άλλων αλάτων πέρα του NaCl για τον πολλαπλασιασμό αυτού του αερόβιο βακτηρίου. Επίσης εντάσσεται στα ελεύθερα βακτήρια (free living bacteria) και η μέγιστη αφθονία του εμφανίζεται στην λανθάνουσα φάση της αύξησης του δινομαστιγωτού, καθώς αυτό παράγει ενώσεις μικρού μοριακού βάρους οι οποίες ευνοούν την αύξηση του βακτηρίου, που με την σειρά του προμηθεύει ως αντάλλαγμα βιταμίνες B1 και B12, έως την αύξηση του δινομαστιγωτού που ταυτόχρονα επέρχεται η μείωση της αύξησης του βακτηρίου (Park et al. 2017). Αναφορές τοποθετούν την ύπαρξή του *Marivita cryptomonadis* και στη Μεσόγειο Θάλασσα (Jeanthon et al. 2011). Το OTU0011 που αντιστοιχεί στο αερόβιο βακτήριο *Roseovarius mucosus* αποτελεί άλλον ένα εκπρόσωπο της Οικογένειας *Rhodobacteraceae*. Βρέθηκε και μελετήθηκε από τους Biebl et al. (2005) στην καλλιέργεια του δινομαστιγωτού *Alexandrium ostenfeldii* και ευδοκίμει σε θερμοκρασία 20°-40°C και pH 6-8,8. Εντοπίστηκε, επίσης, στο μικροφύκος *Tetraselmis suecica* (Biondi et al. 2017) και στην Μεσόγειο Θάλασσα (Jeanthon et al. 2011). Μπορεί να παράγει πτητικές ενώσεις σεληνίου (Brock et al. 2013) και παράγωγα μακράς αλυσίδας AHL(Acylhomoserine lactone) (Ziesche et al. 2015).

Η εκπροσώπηση της Οικογένειας *Rhodobacteraceae* συνεχίζεται στην καλλιέργεια του *Tetraselmis suecica* με το OTU0018. Το συγκεκριμένο βακτήριο ανήκει στο αερόβιο είδος *Sulfitobacter dubius*, το οποίο εντοπίστηκε και μελετήθηκε από τους Ivanova et al. (2004) στο θαλάσσιο φανερόγαμο *Zostera marina* στον Κόλπο

Peter, στην Ιαπωνία και σε βάθος 5-8 m. Η αύξησή του απαιτεί θερμοκρασίες 10°-30° C και pH 6-11. Επίσης συναντάται στο ίζημα του υποθαλάσσιου πηγαδιού Lucky Strike 600 Km νότια από τις Αζόρες και ενεργεί στον μεταβολισμό του βολφραμίου (Coimbra et al. 2017). Το OTU0024 που αντιστοιχεί στο αερόβιο βακτήριο *Thioclava nitratreducens*, εντοπίζεται στα επιφανειακά ύδατα της Θάλασσας Bering και η αύξησή του γίνεται στους 10°-43°C και σε pH 6-9, ενώ είναι ικανό στην μετατροπή νιτρικών σε νιτρώδη και στην παραγωγή υδρόθειου (Liu et al. 2017). Το OTU0033 αντιστοιχεί στο αερόβιο βακτήριο *Marivita litorea*, το οποίο εντοπίστηκε και μελετήθηκε στα παράκτια θαλάσσια ύδατα της Κορέας (Hwang et al. 2009). Η αύξηση του γίνεται στους 15°-33°C και σε pH 6-10, ενώ απαιτεί και άλλα άλατα εκτός από το NaCl και δεν συμβάλλει στη μετατροπή των νιτρικών σε νιτρώδη. Το OTU0038 αντιστοιχεί στο αερόβιο βακτήριο *Oceanicola nitratreducens*, το οποίο εντοπίζεται στον Κόλπο Beibu στη Νότια Θάλασσα της Κίνας (Zheng et al. 2010). Φαίνεται να συμβάλλει στη μείωση των νιτρικών και αυξάνεται στους 10°-37°C και σε pH 7-9,5. Το OTU0040 αντιστοιχεί στο αερόβιο βακτήριο *Donghicola tyrosinivorans*, εντοπίζεται στα Θαλάσσια ύδατα των Νήσων Jeju και αυξάνεται σε θερμοκρασία 15°-40°C και σε pH 5,5-9 (Sung et al. 2015). Τέλος το OTU0043 είναι ο τελευταίος εκπρόσωπος της Οικογένειας *Rhodobacteraceae* που εντοπίζεται στο σχηματισμό των κυρίαρχων βακτηρίων στις μεταχειρίσεις του μικροφύκου *Tetraselmis suecica* και αντιστοιχεί στο βακτήριο *Labrenzia aggregata*. Η πρώτη αναφορά για το συγκεκριμένο βακτήριο γίνεται από τους Uchino et al. (1998), για την ύπαρξή του στη θάλασσα και την μετατροπή των νιτρώδων σε αέριο. Το 2007 οι Biebl et al. εντοπίζουν την ύπαρξή του σε ίζημα της Βαλτικής Θάλασσας, ενώ οι Hollants et al. (2011) παρατηρούν δυνητικά χαρακτηριστικά ενδοσυμβίωσης και οι Yin et al. (2014) εντοπίζουν την ύπαρξη του



κυτοχρώματος P450. Επίσης εντοπίζεται στην καλλιέργεια των μικροφυκών *Nannochloropsis gaditana*, *Nannochloropsis oculata*, *Cylindrotheca fusiformis*, *Karenia mikimotoi* (Han et al. 2016), αλλά και στην Ανατολική Θάλασσα της Κίνας, όπου παρατηρείται η ετεροτροφική του δραστηριότητα (Curson et al. 2017), αλλά και η σύνθεση DMSP (Bullock et al. 2017; Curson et al. 2017). Επιπλέον κατά την αύξησή του όταν η πηγή άνθρακα προέρχεται από καλαμπόκι, παρατηρείται η παραγωγή αντιμικροβιακών ενώσεων (Surface Active Compounds, SAC) (Saimmai et al. 2018).

Κατά τον σχηματισμό των επικρατέστερων βακτηρίων στην καλλιέργεια του *Tetraselmis suecica* παίρνουν μέρος και μέλη της Οικογένειας *Flavobacteraceae*, όπως το OTU0007, το οποίο αντιστοιχεί στο αερόβιο βακτήριο *Marixanthomonas ophiurae*. Το βακτήριο αυτό εντοπίστηκε και μελετήθηκε σε αστερία (Brittle star) βαθέων υδάτων στη Θάλασσα Fiji και σε βάθος 480 m (Romanenko et al. 2007). Η αύξησή του επιτυγχάνεται σε θερμοκρασία 5°-32°C, pH 6,5-8,5 και απαιτεί ιόντα Na<sup>+</sup>, ενώ είναι χημειοργανότροφο και δεν συμβάλλει στη μείωση των νιτρικών. Άλλος ένας εκπρόσωπος της συγκεκριμένης Οικογένειας είναι το OTU0012 που ανήκει στο βακτήριο *Psychroserpens mesophilus*, το οποίο απομονώθηκε από ακρυλική επιφάνεια βυθισμένη για τρεις (3) ημέρες στην ακτή Gangneung της Κορέας, αυξάνεται στους 10°-34°C και σε pH 6-9, ενώ απαιτεί 0-18% CaCl<sub>2</sub> ή 0-59% MgCl<sub>2</sub> συμπληρωματικά με το NaCl και συμβάλλει στην μείωση των νιτρικών (Kwon et al. 2006). Τελευταίος εκπρόσωπος των *Flavobacteraceae* που εντοπίζεται στον σχηματισμό των κυρίαρχων βακτηρίων είναι το OTU0029 και αντιστοιχεί στο αερόβιο βακτήριο *Lishizhenia tianjinensis*. Εντοπίστηκε στα παράκτια θαλάσσια ύδατα στην περιοχή Tianjin στην Κίνα και η αύξησή του γίνεται στους 4°-36°C και σε pH 7,2-9,6 (Chen et al. 2009). Κατά τους ίδιους ερευνητές το *Lishizhenia tianjinensis* αποτελεί ένα ετερότροφο

βακτήριο, το οποίο παράγει υδρόθειο και καροτενοειδή, για την αύξησή του είναι απαραίτητα τα θαλάσσια άλατα και οι σύνθετες οργανικές ενώσεις, ενώ αδυνατεί να αξιοποιήσει τους υδατάνθρακες. Επίσης, εντοπίζεται σε παράκτια επιφανειακά ύδατα στην περιοχή Scripps Pier, La Jolla, στην Καλιφόρνια και φαίνεται να μεταβολίζει αλγινικά σωματίδια (Mitulla et al. 2016), ενώ ο Aldahi (2017) το εντοπίζει εσωτερικά και εξωτερικά της προνύμφης *Dermestidae*, η οποία βρίσκεται σε νεκρό ανθρώπινο σώμα.

Στην κυριαρχία των βακτηρίων στις μεταχειρίσεις του μικροφύκους *Tetraselmis suecica* συμμετέχει η Οικογένεια *Marinobacteraceae* και το OTU0009 που αντιστοιχεί στο βακτήριο *Marinobacter goseongensis*. Ο εντοπισμός του γίνεται στα παράκτια ύδατα της Θάλασσας της Ανατολικής Κορέας και σε βάθος 100 m, ενώ η αύξησή του επιτυγχάνεται στους 10°-37°C και σε pH 5,3-9,3 (Woon Roh et al. 2008). Εντοπίζεται, επίσης, σε νερό του ορυχείου Emalahleni, στη Νότια Αφρική, όπου φαίνεται να συμβάλλει στη μείωση του βαναδίου και του νικελίου στο νερό του ορυχείου (Kamika & Momba 2014), ενώ ο εντοπισμός του στα παράκτια ύδατα των Νήσων Jeju της Κορέας συνδέεται με την ύπαρξη μικροφυκών και την παραγωγή αντιοξειδωτικών ενώσεων (Kim et al. 2014). Επίσης η Οικογένεια *Hyphomonadaceae* εκπροσωπείται από το OTU0010, το οποίο αντιστοιχεί στο αερόβιο βακτήριο *Oceanicaulis stylophorae*. Το συγκεκριμένο βακτήριο εντοπίζεται στο κοράλλι *Stylophora pistillata*, στα παράκτια ύδατα των Νήσων Green στην Ταϊβάν και σε βάθος 3-8 m και η αύξησή του πραγματοποιείται στους 15°-45°C και σε pH 6-10 (Chen et al. 2012). Τέλος η κυριαρχία των βακτηρίων ολοκληρώνεται με την Οικογένεια *Sphingomonadaceae* και το OTU0015, το οποίο αντιστοιχεί στο αερόβιο βακτήριο *Porphyrobacter sanguineus*. Σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε από τους Hiraishi et al. (2002) έγιναν γνωστές οι

συνθήκες αύξησης αυτού του βακτηρίου, με θερμοκρασία 20°-37°C και με pH 7-7,5, σε θαλάσσια και υφάλμυρα ενδιαιτήματα, ενώ οι τροφικές απαιτήσεις του το κατατάσσουν στους χημειοργανότροφους μικροοργανισμούς και φαίνεται να μπορεί να διασπάσει διφαινύλια και διβενζοφουράνιο. Επιπλέον εντοπίζεται σε επιλιθική μεμβράνη από παλιρροιακό βραχώδες υπόστρωμα στον Κόλπο του Μεξικού (Narvaez-Zapata et al. 2005) και στο παράκτιο θαλάσσιο ίζημα στην Παταγονία, όπου μελετήθηκε η ύπαρξη γονιδίων για την παραγωγή κυκλικών αρωματικών διοξυγενασών (ARHD) (Lozada et al. 2008). Ακόμα εντοπίστηκε σε ίζημα στον σταθμό Syowa στην Ανταρκτική (Muangchinda et al. 2014) και στην καλλιέργεια του μικροφύκου *Tetraselmis suecica* (Biondi et al. 2017; Biondi et al. 2018).

Όσον αφορά τον σχηματισμό των κυρίαρχων κοινοτήτων βακτηρίων στις μεταχειρίσεις του μικροφύκου *Tisochrysis lutea*, αυτές περιλαμβάνουν μέλη των Οικογενειών *Aphanothecaceae*, *Flavobacteraceae* και *Rhodobacteraceae*, με τα OTU0001, OTU0002 και OTU0003 αντίστοιχα. Το OTU0001 αντιστοιχεί στο βακτήριο *Gloeotheca membranacea*, όπου αναφέρεται από τους Rippka & Cohen-Bazire (1983) και Nelissen et al. (1995). Μάλιστα οι Rippka & Cohen-Bazire (1983) υποστηρίζουν ότι η αύξησή του δεν πραγματοποιείται σε θερμοκρασίες υψηλότερες από τους 39°C και ότι το βακτήριο πραγματοποιεί αέρια μετατροπή του αζώτου. Επίσης εντοπίζεται στις κατακόμβες του Saint Callistus στη Ρώμη (Bellezza & Albertano 2003) και σε λίμνη της Σλοβακίας (Hindak & Hindakova 2003), ενώ η βέλτιστη θερμοκρασία αύξησής του είναι 20°-25°C και pH 7,1 (Mohsenpour et al. 2012). Το OTU0002 αντιστοιχεί στο αερόβιο βακτήριο *Kordia aquimaris*. Το συγκεκριμένο βακτήριο εμφανίζεται σε παράκτια επιφανειακά θαλάσσια ύδατα στην Ταϊβάν και σε βάθος 10cm, ενώ αυξάνεται στους 20°-35°C, σε pH6-8 και παράγει ζεαξανθίνη (Hameed et al. 2013). Τέλος, το

OTU0003 αντιστοιχεί στο βακτήριο *Mameliella atlantica*, που εντοπίζεται σε ίζημα βαθιάς θάλασσας στον Νότιο Ατλαντικό Ωκεανό, σε βάθος 2835 m και αυξάνεται στους 10°-41°C, σε pH 5-10,5 και είναι θετικό για την μείωση των νιτρικών και την παραγωγή ινδόλης (Xu et al. 2015).

Η κοινότητα των κοινών βακτηρίων σε όλες τις μεταχειρίσεις αποτελείται από τα *Mameliella atlantica*, *Marivita cryptomonadis*, *Marinobacter goseongensis*, *Roseovarius mucosus*, *Porphyrobacter sanguineus*, *Muribaculum intestinale* και *Donghicola tyrosinivorans*. Παραπάνω γίνεται αναφορά σε όλα εκτός από το *Muribaculum intestinale*, στο οποίο αντιστοιχεί το OTU00032. Το συγκεκριμένο βακτήριο εντοπίζεται στον πεπτικό σωλήνα ποντικών, είναι αναερόβιο και αυξάνεται στη θερμοκρασία των 37°C (Lagkouvardos et al. 2016).

Με μια πιο προσεκτική ματιά στις ιδιότητες των παραπάνω βακτηρίων παρατηρείται η αρωγή τους στην διατήρηση συνθηκών ικανών για την αύξηση των δύο μικροφυκών. Τα *Gloeotheca membranacea*, *Mameliella atlantica*, *Nioella nitratreducens*, *Roseibacterium beibuensis*, *Psychroserpens mesophilus*, *Thioclava nitratreducens*, *Oceanicola nitratreducens* και *Labrenzia aggregata* έχουν ενεργό ρόλο στον κύκλο του αζώτου στο νερό, παρέχοντας φυσικό λίπασμα στα μικροφύκη. Το βακτήριο *Marivita cryptomonadis* εμπλουτίζει το νερό με βιταμίνες B1 και B12 απαραίτητες για την ανάπτυξη των μικροφυκών (Park et al. 2017) και το *Marinobacter goseongensis* παρέχει αντιοξειδωτικές ενώσεις (Kim et al. 2015). Η παραγωγή ινδόλης από το *Mameliella atlantica* (Xu et al. 2015) φαίνεται να ευνοεί τον σχηματισμό βιομεμβρανών (Lee & Lee 2010), αλλά και την αποτροπή της ανάπτυξης παθογόνων βακτηρίων, χάρη στην αντιμικροβιακή της δράση (Güven et al. 2010), προστατεύοντας τις καλλιέργειες, αλλά κατά τους ίδιους συγγραφείς, μπορεί να δράσει και ως

παράγοντας ελέγχου της αύξησης των φυτικών κυττάρων. Το *Roseovarius mucosus* εμπλουτίζει το νερό με σελήνιο, λόγω των πτητικών ενώσεων σεληνίου που παράγει (Brock et al. 2013). Επίσης οι ενώσεις N-AHL μακράς αλυσίδας που συνθέτει (Ziesche et al. 2015) εμπλέκονται στο quorum sensing, στη δημιουργία βιομεμβρανών (Gram et al. 2002), στην μετατροπή οργανικού φωσφόρου (Van Mooy et al. 2012), επηρεάζουν ένζυμα αποικοδόμησης του οργανικού άνθρακα (Gram et al. 2002; Hmelo et al. 2011), την παραγωγή αντιβιοτικών και την δημιουργία ενζύμων εξωτερικά του κυττάρου (Gram et al. 2002). Η παρουσία του γονιδίου για τα ένζυμα των κυκλικών αρωματικών διοξυγενασών στο βακτήριο *Porphyrobacter sanguineus* (Lozada et al. 2008), υποδηλώνουν την συμμετοχή του στην αναγωγή του νικοτιναμιδο-αδενινωδινουκλεοτίδιου (Nicotinamide Adenine Dinucleotide, NADH) μέσω της φερεδοξίνης, διαδραματίζοντας σημαντικό ρόλο στην φωτοσύνθεση (Butler & Mason 1997), όπως και το κυτόχρωμα P450 του βακτηρίου *Labrenzia aggregate* (Yin et al. 2014). Επίσης, στην φωτοσύνθεση εμπλέκονται τα καροτενοειδή, τα οποία παράγονται από το *Lishizenia tianjinensis* (Chen et al. 2009) και η ζεαξανθίνη που παράγεται από το *Kordia aquimaris* (Hameed et al. 2013) και είναι βασική ουσία για την αύξηση των οργανισμών που απαιτούν φως, καθώς προστατεύει από την φωτο-οξειδωτική φθορά (Demming-Adams 1990). Επιπλέον, το *Donghicola tyrosinivorans* καταλύει το αμινοξύ τυροσίνη (Sung et al. 2015) και δημιουργεί ενώσεις που λειτουργούν ως αποδέκτες φωσφορικών ομάδων με σημαντική λειτουργία στη μεταφορά ηλεκτρονίων κατά την φωτοσύνθεση (Styring et al. 2012). Η ύπαρξη του θείου στο νερό της καλλιέργειας πραγματοποιείται με την βιοσύνθεση του DMSP από το *Labrenzia aggregate* (Bullock et al. 2017; Curson et al. 2017) και την παραγωγή υδρόθειου από το *Lishizenia tianjinensis* (Chen et al. 2009), με το δεύτερο να δρα και ως καταναλωτής

των αλγινικών σωματιδίων των νεκρών φυτικών κυττάρων (Mitulla et al. 2016). Τέλος δεν εντοπίστηκαν βακτήρια που να προκαλούν την κατάρρευση των καλλιεργειών των δύο μικροφυκών σε όλους τους τρόπους μεταχείρισης.

Οι φωτοβιοαντιδραστήρες αποτελούν ένα μέσο καλλιέργειας μικροφυκών ιδανικό για την αύξηση, καθώς είναι δυνατή η παρακολούθηση παραμέτρων και η επέμβαση σε αυτές, όμως λόγω υψηλού κόστους δεν προτιμώνται στην μαζική παραγωγή (Behrens 2005). Ωστόσο, σε πειραματική καλλιέργεια του είδους *Tetraselmis suecica* σε νερό από υδατοκαλλιέργεια σε φωτοβιοαντιδραστήρα, η παραγωγή βιομάζας του μικροφύκου ήταν υψηλή, όπως υψηλή ήταν και η μείωση του αζώτου και του φωσφόρου (Michels et al. 2014). Επιπλέον, σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε από τους Salvesen et al. (2000) στα είδη *Tetraselmis* sp. και *Pavlova lutheri* το βακτηριακό φορτίο που παρατηρήθηκε είναι σχετικά χαμηλό και δεν επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από τις συνθήκες καλλιέργειας, ενώ τα είδη *Tetraselmis* sp. είχαν χαμηλά επίπεδα ευκαιριακών βακτηρίων σε όλες τις συνθήκες εκτροφής.

## 5.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η καλλιέργεια των μικροφυκών *Tetraselmis suecica* και *Tisochrysis lutea* σε φωτοβιοντιδραστήρα παρουσίασε μεγαλύτερη αφθονία Λειτουργικών Ταξινομικών Μονάδων (OTUs), αλλά μικρότερη ισομέρεια σε σχέση με την καλλιέργεια τους σε σάκους πολυαιθυλενίου. Στην αρχή όλων των μεταχειρίσεων παρατηρήθηκε μικρότερη αφθονία σε σχέση με το τέλος τους και οι καλλιέργειες του μικροφύκου *T. suecica* φανέρωσαν περισσότερα OTUs σε σχέση με τις καλλιέργειες του μικροφύκου *T. lutea*. Στατιστικώς σημαντικές διαφορές παρουσιάστηκαν στην κατανομή της αφθονίας των βακτηρίων του *T. lutea* στο τέλος της καλλιέργειας σε φωτοβιοαντιδραστήρα. Σε όλες τις μεταχειρίσεις εντοπίστηκαν 6 κοινά βακτήρια, αλλά δεν υπήρξε κάποιο που να επιφέρει την κατάρρευση των καλλιεργειών.

## 6.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### 6.1 Ελληνική Βιβλιογραφία

- Γκέλης, Σ. (2015). Καλλιέργεια φυκών. In: Βουλτιάδου, Ε., Αμπατζόπουλος, Θ.Ι., Αντωνοπούλου, Ε., Γκάνιας, Κ., Γκέλης, Σ., Στάικου, Α., Τριανταφυλλίδης Α. (eds) *Υδατοκαλλιέργειες οργανισμοί, συστήματα παραγωγής, προοπτικές. Ελληνικά Ακαδημαϊκά Ηλεκτρονικά Συγγράμματα και Βοηθήματα*, σελ. 150-179.
- Κλαουδάτος, Δ. και Κλαουδάτος, Δ.Σ. (2012). Αναπαραγωγή – εκτροφή ιχθύων θαλάσσιων υδάτων. In: Κλαουδάτος, Δ. και Κλαουδάτος, Δ.Σ. (eds) *Καλλιέργειες φυτικών και εκτροφές υδρόβιων ζωικών οργανισμών. Εκδόσεις Προπομπός*, σελ. 169-282.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Parker, J., (2013). Βιολογία του ευκαρυωτικού κυττάρου και ευκαρυωτικοί μικροοργανισμοί. In: Madigan, M.T., Martinko, J.M., Parker, J. (eds) *Βιολογία των μικροοργανισμών, Τόμος Ι*, σελ. 565-571.

### 6.2 Ξένη Βιβλιογραφία

- Acien, F.G., Molina, E., Reis, A., Torzillo, G., Zittelli, G.C., Sepulveda, C., Masojidek, J. (2017). Photobioreactors for the production of microalgae. In: Muñoz, R., & Gonzalez-Fernandez, C. (eds) *Microalgae-based biofuels and bioproducts*. Elsevier, UK, p 1-44.
- Aldahi, A., (2017). Studies on microbes including potential human pathogens from insects and other invertebrates. Master Thesis, University of Sheffield, p 197.
- Allgaier, M., Felske, A., & Wagner-do, I. (2003). Aerobic Anoxygenic Photosynthesis in. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(9), 5051–5059.
- Amin, S. A., Green, D. H., Trimble, L., & Carrano, C. J. (2012). Siderophore-mediated iron uptake in two clades of *Marinobacter* spp . associated with phytoplankton : the role of light, 181–192.
- Amin, S. A., Green, D. H., Trimble, L., & Carrano, C. J. (2012). Siderophore-mediated iron uptake in two clades of *Marinobacter* spp . associated with phytoplankton : the role of light, 181–192.
- Amin, S. A., Hmelo, L. R., Van Tol, H. M., Durham, B. P., Carlson, L. T., Heal, K. R., Armbrust, E. V. (2015). Interaction and signalling between a cosmopolitan phytoplankton and associated bacteria. *Nature*, 522(7554), 98–101.
- Amin, S. A., Parker, M. S., & Armbrust, E. V. (2012). Interactions between Diatoms



- and Bacteria, 76(3), 667–684.
- Austin, B., Baudet, E., & Stobie, M. (1992). Inhibition of bacterial fish pathogens by *Tetraselmis suecica*. *Journal of Fish Diseases*, 15(1), 55–61.
- Austin, B., & Dayb, J. G. (1990). Inhibition of prawn pathogenic *Vibrio* spp . by a commercial spray-dried preparation of *Tetraselmis suecica*. *Journal of Aquaculture*, 90, 389–392.
- Avendaño-Herrera, R. E., & Riquelme, C. E. (2007). Production of a diatom-bacteria biofilm in a photobioreactor for aquaculture applications. *Aquacultural Engineering*, 36(2), 97–104.
- Azam, F., & Malfatti, F. (2007). Microbial structuring of marine ecosystems. *Nature Reviews Microbiology*, 5(10), 782–791.
- Barsanti, L., & Gualtieri, P. (2014). Algal Culturing. In: Barsanti, L., & Gualtieri, P. (eds) *Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology*. CRC Press, New York, p 221-266.
- Barsanti, L., & Gualtieri, P. (2014). General Overview. In: Barsanti, L., & Gualtieri, P. (eds) *Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology*. CRC Press, New York, p 1-48.
- Behrens, P.W. (2005). Photobioreactors and fermentors: The light and dark sides of growing algae. In: Andersen, R.A. (eds) *Algal culturing techniques*, p 189-203.
- Bell, W., Mitchell, R. (1972). Chemotactic and growth responses of marine bacteria to algal extracellular products. *Bio. Bull*, 143, 265-277.
- Bellezza, S., & Albertano, P. (2003). A Chroococcalean species from Roman hypogean sites: characterisation of *Gloeotheca membranacea* (Cyanobacteria, Synechococcaceae). *Algological Studies*, 109(1), 103–112.
- Biebl, H., Allgaier, M., Lünsdorf, H., Pukall, R., Tindall, B. J., & Wagner-Döbler, I. (2005). *Roseovarius mucosus* sp. nov., a member of the *Roseobacter* clade with trace amounts of bacteriochlorophyll a. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(6), 2377–2383.
- Biebl, H., Pukall, R., Lünsdorf, H., Schulz, S., Allgaier, M., Tindall, B. J., & Wagner-Döbler, I. (2007). Description of *Labrenzia alexandrii* gen. nov., sp. nov., a novel alphaproteobacterium containing bacteriochlorophyll a, and a proposal reclassification of *Stappia aggregata* as *Labrenzia aggregata* comb. nov., and of *Stappia alba* as *Labrenzia alba* comb. nov., and emended descriptions of the genera *Pannonibacter*, *Stappia* and *Roseibium*, and of the species *Roseibium denhamense* and *Roseibium hamelinense*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(5), 1095–1107.
- Biondi, N., Cheloni, G., Rodolfi, L., Viti, C., Giovannetti, L., & Tredici, M. R. (2018). *Tetraselmis suecica* F&M-M33 growth is influenced by its associated bacteria. *Microbial Biotechnology*, 11(1), 211–223.

- Biondi, N., Cheloni, G., Tatti, E., Decorosi, F., Rodolfi, L., Giovannetti, L., Viti, C., Tredici, M. R. (2017). The bacterial community associated with *Tetraselmis suecica* outdoor mass cultures. *Journal of Applied Phycology*, 29(1), 67–78.
- Brinkhoff, T., Bach, G., Heidorn, T., Liang, L., Schlingloff, A., & Simon, M. (2004). Antibiotic Production by a *Roseobacter* Clade-Affiliated Species from the German Wadden Sea and Its Antagonistic Effects on Indigenous Isolates †, 70(4), 2560–2565.
- Brock, N. L., Citron, C. A., Zell, C., Berger, M., Wagner-Döbler, I., Petersen, J., Brinkhoff, T., Simon, M., Dickschat, J. S. (2013). Isotopically labeled sulfur compounds and synthetic selenium and tellurium analogues to study sulfur metabolism in marine bacteria. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 9, 942–950.
- Brown, M. R., McCausland, M. A., & Kowalski, K. (1998). The nutritional value of four Australian microalgal strains fed to Pacific oyster *Crassostrea gigas* spat. *Aquaculture*, 165(3–4), 281–293.
- Brown, M.R. (2002). Nutritional value of microalgae for aquaculture. In: Cruz-Suarez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortes, M.G., Simoes, N. (eds) *Avances en Nutricion Acuicola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutricion Acuicola*. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancun, Quintana Roo, Mexico.
- Brown, M.R., & Blackburn, S.I. (2013). Live microalgae as feeds in aquaculture hatcheries. In: Allan, G., & Burnell, G. (eds) *Advances in aquaculture hatchery technology*. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, p 117-156
- Bruckner, C. G., Rehm, C., Grossart, H., & Kroth, P. G. (2011). Growth and release of extracellular organic compounds by benthic diatoms depend on interactions with bacteria. *Environmental Microbiology*, 13(4), 1052–1063.
- Brugiroux, S., Beutler, M., Pfann, C., Garzetti, D., Ruscheweyh, H. J., Ring, D., Diehl, M., Herp, S., Lotscher, Y., Hussain, S., Bunk, B., Pukall, R., Huson, D.H., Munch, P.C., McHardy, A., McCoy, K.D., Macpherson, A.J., Loy, A., Clavel, T., Berry, D., Stecher, B. (2016). Genome-guided design of a defined mouse microbiota that confers colonization resistance against *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Nature Microbiology*, 2(2), 1–12.
- Buchan, A., LeClerc, G. R., Gulvik, C. A., & González, J. M. (2014). Master recyclers: features and functions of bacteria associated with phytoplankton blooms. *Nature Reviews. Microbiology*, 12(10), 686–698.
- Budinoff, C. R. (2012). Diversity and Activity of *Roseobacters* and *Roseophage*. *Doctoral Dissertations*. University of Tennessee, Knoxville, p. 194.
- Bullock, H. A., Luo, H., & Whitman, W. B. (2017). Evolution of dimethylsulfoniopropionate metabolism in marine phytoplankton and bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 8(APR), 1–17.

- Butler, C. S., & Mason, J. R. (1997). *Structure-function analysis of the bacterial aromatic ring-hydroxylating dioxygenases. Advances in microbial physiology* (Vol. 38).
- Canfield, D. E., Glazer, A. N., & Falkowski, P. G. (2010). REVIEW The Evolution and Future of Earth ' s Nitrogen Cycle. *Science*.
- Cardinaletti, G., Messina, M., Bruno, M., Tulli, F., Poli, B. M., Giorgi, G., Chini-Zittelli, G., Tredici, M., Tibaldi, E. (2018). Effects of graded levels of a blend of *Tisochrysis lutea* and *Tetraselmis suecica* dried biomass on growth and muscle tissue composition of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed diets low in fish meal and oil. *Aquaculture*, 485, 173–182.
- Carrier, G., Garnier, M., Le Cunff, L., Bougaran, G., Probert, I., De Vargas, C., Corre, E., Cadoret, J.P., Saint-Jean, B. (2014). Comparative transcriptome of wild type and selected strains of the microalgae *Tisochrysis lutea* provides insights into the genetic basis, lipid metabolism and the life cycle. *PLoS ONE*, 9(1).
- Chen, L. P., Xu, H. Y., Fu, S. Z., Fan, H. X., Zhou, Y. G., & Liu, Z. P. (2009). *Lishizhenia tianjinensis* sp. nov., isolated from coastal seawater. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59(10), 2400–2403.
- Chen, M. H., Sheu, S. Y., Chen, C. A., Wang, J. T., & Chen, W. M. (2012). *Oceanicaulis stylophorae* sp. nov., isolated from the reef-building coral *Stylophora pistillata*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62(9), 2241–2246.
- Cotner, J. B., & Biddanda, B. A. (2002). Small Players , Large Role : Microbial Influence on Biogeochemical Processes in Pelagic Aquatic Ecosystems, 105–121.
- Curson, A. R. J., Liu, J., Bermejo Martínez, A., Green, R. T., Chan, Y., Carrión, O., Williams, B.T., Zhang, S.-H., Yang, G.-P., Bulman Page, P.C., Zhang, X.-H., Todd, J. D. (2017). Dimethylsulfoniopropionate biosynthesis in marine bacteria and identification of the key gene in this process. *Nature Microbiology*, 2(February).
- Davidson, A. T., & Marchant, H. J. (1987). Binding of manganese by Antarctic *Phaeocystis pouchetii* and the role of bacteria in its release. *Marine Biology*, 95(3), 481–487.
- De-Bashan, L. E., Moreno, M., Hernandez, J. P., & Bashan, Y. (2002). Removal of ammonium and phosphorus ions from synthetic wastewater by the microalgae *Chlorella vulgaris* coimmobilized in alginate beads with the microalgae growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*. *Water Research*, 36(12), 2941–2948.
- Delucca, R., & Mccracken, M. D. (1975). Observations on interactions between naturally-collected bacteria and several species of algae. *Hydrobiologia*, 55(1), 71–75.
- Demmig-Adams, B. (1990). Carotenoids and photoprotection in plants: A role for the

- xanthophyll zeaxanthin. *BBA - Bioenergetics*, 1020(1), 1–24.
- Doucette, G. J., McGovern, E. R., & Babinchak, J. a. (1999). Algicidal bacteria active against *Gymnodinium breve* (Dinophyceae). I. Bacterial isolation and characterization of killing activity. *Journal of Phycology*, 35, 1447–1454.
- Du, J., Liu, Y., Lai, Q., Dong, C., Xie, Y., & Shao, Z. (2015). *Kordia zhangzhouensis* sp. Nov., isolated from surface freshwater. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 65(10), 3379–3383.
- Durham, B. P., Dearth, S. P., Sharma, S., Amin, S. A., Smith, C. B., Campagna, S. R., Smith, C.B., Moran, M. A. (2017). Recognition cascade and metabolite transfer in a marine bacteria-phytoplankton model system. *Environmental Microbiology*, 19(9), 3500–3513.
- Durham, B. P., Sharma, S., Luo, H., Smith, C. B., Amin, S. A., Bender, S. J., Dearth, S.P., Van Mooy, B.A.S., Campagna, S.R., Kujawinski, E.B., Armbrust, E.V., Moran, M. A. (2015). Cryptic carbon and sulfur cycling between surface ocean plankton. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(2), 453–457.
- Fabregas, J., & Herrero, C. (1990). Vitamin content of four marine microalgae. Potential use as source of vitamins in nutrition. *Journal of Industrial Microbiology*, 5(4), 259–263.
- FAO (2015). Fisheries and aquaculture statistics. p 78.
- Finkel, P. N., Kronenberg, K., Pesce, A. J., Pollak, V. E., & Pirani, C. L. (1973). Adult Fanconi syndrome, amyloidosis and marked kappa-light chain proteinuria. *Nephron*, 10(1), 1–24.
- Foster, R. A., Kuypers, M. M. M., Vagner, T., Paerl, R. W., Musat, N., & Zehr, J. P. (2011). Nitrogen fixation and transfer in open ocean diatom – cyanobacterial symbioses. *The ISME Journal*, 5(9), 1484–1493.
- Garnier, M., Carrier, G., Rogniaux, H., Nicolau, E., Bougaran, G., Saint-Jean, B., & Cadoret, J. P. (2014). Comparative proteomics reveals proteins impacted by nitrogen deprivation in wild-type and high lipid-accumulating mutant strains of *Tisochrysis lutea*. *Journal of Proteomics*, 105, 107–120.
- Geng, H., & Belas, R. (2010). Molecular mechanisms underlying roseobacter – phytoplankton symbioses. *Current Opinion in Biotechnology*, 21, 332–338.
- Green, D. H., Echavarri-Bravo, V., Brennan, D., & Hart, M. C. (2015). Bacterial diversity associated with the coccolithophorid algae *emiliana huxleyi* and *coccolithus pelagicus* f. *braarudii*. *BioMed Research International*, 2015(June).
- Gram, L., Grossart, H.-P., Schlingloff, A., Kiørboe, T. (2002). Possible Quorum Sensing in Marine Snow Bacteria: Production of Acylated Homoserine Lactones by Roseobacter Strains Isolated from Marine Snow. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(8), 4111–4116.
- Grossart, H. P., Czub, G., & Simon, M. (2006). Algae-bacteria interactions and their

- effects on aggregation and organic matter flux in the sea. *Environmental Microbiology*, 8(6), 1074–1084.
- Grossart, H. P., Levold, F., Allgaier, M., Simon, M., & Brinkhoff, T. (2005). Marine diatom species harbour distinct bacterial communities. *Environmental Microbiology*, 7(6), 860–873.
- Guedes, A.C., & Malcata, F.X. (2012). Nutritional Value and Uses of Microalgae in Aquaculture. In: Muchlisn, Z.A. (eds) Aquaculture. IntechOpen, p 59-78.
- Gupta, R. S., & Mok, A. (2007). Phylogenomics and signature proteins for the alpha Proteobacteria and its main groups. *BMC Microbiology*, 7, 1–20.
- Güven, K. C., Percot, A., & Sezik, E. (2010). Alkaloids in marine algae. *Marine Drugs*, 8(2), 269–284.
- Hameed, A., Shahina, M., Lin, S. Y., Cho, J. C., Lai, W. A., & Young, C. C. (2013). *Kordia aquimaris* sp. nov., a zeaxanthin-producing member of the family Flavobacteriaceae isolated from surface seawater, and emended description of the genus *Kordia*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63(PART 12), 4790–4796.
- Han, J., Zhang, L., Wang, S., Yang, G., Zhao, L., & Pan, K. (2016). Co-culturing bacteria and microalgae in organic carbon containing medium. *Journal of Biological Research-Thessaloniki*, 23(1), 8.
- Harun, R., Davidson, M., Doyle, M., Gopiraj, R., Danquah, M., & Forde, G. (2011). Technoeconomic analysis of an integrated microalgae photobioreactor, biodiesel and biogas production facility. *Biomass and Bioenergy*, 35(1), 741–747.
- Harwati, T. U., Kasai, Y., Kodama, Y., Susilaningih, D., & Watanabe, K. (2007). Characterization of Diverse Hydrocarbon-Degrading Bacteria Isolated from Indonesian Seawater. *Microbes and Environments*, 22(4), 412–415.
- Hindák, F., & Hindáková, A. (2003). Diversity of cyanobacteria and algae of urban gravel pit lakes in Bratislava, Slovakia: A survey. *Hydrobiologia*, 506–509, 155–162.
- Hiraishi, A., Yonemitsu, Y., Matsushita, M., Shin, Y., Kuraishi, H., & Kawahara, K. (2002). Characterization of *Porphyrobacter sanguineus* sp. nov., an aerobic bacteriochlorophyll-containing bacterium capable of degrading biphenyl and dibenzofuran. *Archives of Microbiology*, 178(1), 45–52.
- Hmelo, L. R. (2017). Quorum Sensing in Marine Microbial Environments. *Annual Review of Marine Science*, 9(1), 257–281.
- Hmelo, L. R., Mincer, T. J., & Van Mooy, B. A. S. (2011). Possible influence of bacterial quorum sensing on the hydrolysis of sinking particulate organic carbon in marine environments. *Environmental Microbiology Reports*, 3(6), 682–688.
- Hollants, J., Leroux, O., Leliaert, F., Decleyre, H., de Clerck, O., & Willems, A. (2011). Who is in there? exploration of endophytic bacteria within the siphonous green

- seaweed bryopsis (Bryopsidales, Chlorophyta). *PLoS ONE*, 6(10).
- Hwang, C. Y., Bae, G. D., Yih, W., & Cho, B. C. (2009). *Marivita cryptomonadis* gen. nov., sp. nov. and *Marivita litorea* sp. nov., of the family Rhodobacteraceae, isolated from marine habitats. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59(7), 1568–1575.
- Ivanova, E. P., Gorshkova, N. M., Sawabe, T., Zhukova, N. V., Hayashi, K., Kurinlenko, V., Alexeeva, Y., Buljan, V., Nicolau, D.V., Mikhailov, V.V., Christen, R. (2004). *Sulfitobacter delicatus* sp. nov. and *Sulfitobacter dubius* sp. nov., respectively from a starfish (*Stellaster equestris*) and sea grass (*Zostera marina*). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54(2), 475–480.
- Jauffrais, T., Agogu  , H., Gemin, M. P., Beaugeard, L., & Martin-J        , V. (2017). Effect of bacteria on growth and biochemical composition of two benthic diatoms *Halamphora coffeaeformis* and *Entomoneis paludosa*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 495(June), 65–74.
- Jeanthon, C., Boeuf, D., Dahan, O., Le Gall, F., Garczarek, L., Bendif, E. M., & Lehours, A. C. (2011). Diversity of cultivated and metabolically active aerobic anoxygenic phototrophic bacteria along an oligotrophic gradient in the Mediterranean Sea. *Biogeosciences*, 8(7), 1955–1970.
- Kamika, I., & Momba, M. N. B. (2013). “ Reliable Mine Water Technology ” Bioremediation of  $V^{5+}$  and  $Ni^{2+}$  by indigenous *Marinobacter Goseongensis* isolated from South African Vanadium Mine Waste, 613–618.
- Kamika, I., & Momba, M. N. B. (2014). Microbial diversity of emalahleni mine water in South Africa and tolerance ability of the predominant organism to vanadium and nickel. *PLoS ONE*, 9(1).
- Keshtacher-Liebson, E. T. Y., & Hadar, Y. (1995). Oligotrophic Bacteria Enhance Algal Growth under Iron-Deficient Conditions, 61(6), 2439–2441.
- Kim, D. I., Lee, J. H., Kim, M. S., & Seong, C. N. (2017). *Kordia zosterae* sp. nov., isolated from the seaweed, *Zostera marina*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67(11), 4790–4795.
- Kim, H. S., Zhang, C., Lee, J. H., Ko, J. Y., Kim, E. A., Kang, N., & Jeon, Y. J. (2014). Evaluation of the biological activities of marine bacteria collected from Jeju Island, Korea, and isolation of active compounds from their secondary metabolites. *Fisheries and Aquatic Sciences*, 17(2), 215–222.
- Kim, M.-S., Lee, J.-H., Kang, J.-W., Kim, S.-B., Cho, J.-C., Yoon, J.-H., ... Seong, C.-N. (2016). A report of 38 unrecorded bacterial species in Korea, belonging to the phylum Actinobacteria. *Journal of Species Research*, 5(2), 223–234.
- Kown, K. K., Lee, S. J., Park, J. H., Ahn, T. Y., & Lee, H. K. (2006). *Psychroserpens mesophilus* sp. nov., a mesophilic marine bacterium belonging to the family Flavobacteriaceae isolated from a young biofilm. *International Journal of*

*Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56(5), 1055–1058.

- Lagkouravdos, I., Pukall, R., Abt, B., Foessel, B. U., Meier-Kolthoff, J. P., Kumar, N., Bresciani, A., Martinez, I., Just, S., Ziegler, C., Brugiroux, S., Garzetti, D., Wenning, M., Bui, T.P.N., Wang, J., Hugenholtz, F., Plugge, C.M., Peterson, D.A., Hornef, M.W., Baines, J.F., Smidt, H., Walter, J., Kristiansen, K., Nielsen, H.B., Overmann, J., Stecher, B., Clavel, T. (2016). The Mouse Intestinal Bacterial Collection (miBC) provides host-specific insight into cultured diversity and functional potential of the gut microbiota. *Nature Microbiology*, 1(10), 1–15.
- Lau, W. W. Y., Armbrust, E. V., Degenerate, Y. F., Bay, P., & Channel, S. J. (2006). Detection of glycolate oxidase gene *glcD* diversity among cultured and environmental marine bacteria carbon source was detected for only three species :, 8(September 2005), 1688–1702.
- Le Chevanton, M., Garnier, M., Bougaran, G., Schreiber, N., Lukomska, E., Bérard, J. B., Fouilland, E., Bernard, O., Cadoret, J. P. (2013). Screening and selection of growth-promoting bacteria for *Dunaliella* cultures. *Algal Research*, 2(3), 212–222.
- Lee, J. H., & Lee, J. (2010). Indole as an intercellular signal in microbial communities. *FEMS Microbiology Reviews*, 34(4), 426–444.
- Lee, J., Cho, D. H., Ramanan, R., Kim, B. H., Oh, H. M., & Kim, H. S. (2013). Microalgae-associated bacteria play a key role in the flocculation of *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology*, 131, 195–201.
- Liu, W., Pearce, C. M., McKinley, R. S., & Forster, I. P. (2016). Nutritional value of selected species of microalgae for larvae and early post-set juveniles of the Pacific geoduck clam, *Panopea generosa*. *Aquaculture*, 452, 326–341.
- Liu, Y., Lai, Q., & Shao, Z. (2017). *Thioclava nitratreducens* sp. Nov., isolated from surface seawater. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67(7), 2109–2113.
- Lozada, M., Riva Mercadal, J. P., Guerrero, L. D., Di Marzio, W. D., Ferrero, M. A., & Dionisi, H. M. (2008). Novel aromatic ring-hydroxylating dioxygenase genes from coastal marine sediments of Patagonia. *BMC Microbiology*, 8, 1–13.
- Mahjoubi, M., Jaouani, A., Guesmi, A., Ben Amor, S., Jouini, A., Cherif, H., Najjari, A., Boudabous, A., Koubaa, N., Cherif, A. (2013). Hydrocarbonoclastic bacteria isolated from petroleum contaminated sites In Tunisia: Isolation, identification and characterization of the biotechnological potential. *New Biotechnology*, 30(6), 723–733.
- Manzari, C., Fosso, B., Marzano, M., Annese, A., Caprioli, R., D’Erchia, A. M., Gissi, C., Intranuovo, M., Picardi, E., Santamaria, M., Scorrano, S., Sgaramella, G., Stabili, L., Piraino, M., Pesole, G. (2015). The influence of invasive jellyfish blooms on the aquatic microbiome in a coastal lagoon (Varano, SE Italy) detected by an Illumina-based deep sequencing strategy. *Biological Invasions*, 17(3), 923–940.

- Mao, Y., Wei, J., Zheng, Q., Xiao, N., Li, Q., Fu, Y., Wang, Y., Jiao, N. (2012). *Roseibacterium beibuensis* sp. nov., a novel member of Roseobacter clade isolated from Beibu Gulf in the South China Sea. *Current Microbiology*, 65(5), 568–574.
- Mata, T., Luza, M. F., & Riquelme, C. E. (2017). Production of diatom – bacteria biofilm isolated from *Seriola lalandi* cultures for aquaculture application, 1–13.
- Mayali, X., & Azam, F. (2004). Algicidal bacteria in the sea and their impact on algal blooms. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 51(2), 139–144.
- Meyer, N., Bigalke, A., Kaulfuß, A., & Pohnert, G. (2017). Strategies and ecological roles of algicidal bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 41(6), 880–899.
- Michels, M. H. A., Vaskoska, M., Vermuë, M. H., & Wijffels, R. H. (2014). Growth of *Tetraselmis suecica* in a tubular photobioreactor on wastewater from a fish farm. *Water Research*, 65(0), 290–296.
- Mishra, A., Kavita, K., & Jha, B. (2011). Characterization of extracellular polymeric substances produced by micro-algae *Dunaliella salina*. *Carbohydrate Polymers*, 83(2), 852–857.
- Mitulla, M., Dinasquet, J., Guillemette, R., Simon, M., Azam, F., & Wietz, M. (2016). Response of bacterial communities from California coastal waters to alginate particles and an alginolytic *Alteromonas macleodii* strain. *Environmental Microbiology*, 18(12), 4369–4377.
- Mohsenpour, S. F., Richards, B., & Willoughby, N. (2012). Spectral conversion of light for enhanced microalgae growth rates and photosynthetic pigment production. *Bioresource Technology*, 125, 75–81.
- Mohsenpour, S. F., & Willoughby, N. (2013). Luminescent photobioreactor design for improved algal growth and photosynthetic pigment production through spectral conversion of light. *Bioresource Technology*, 142, 147–153.
- Muangchinda, C., Chavanich, S., Viyakarn, V., Watanabe, K., Imura, S., Vangnai, A. S., & Pinyakong, O. (2015). Abundance and diversity of functional genes involved in the degradation of aromatic hydrocarbons in Antarctic soils and sediments around Syowa Station. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(6), 4725–4735.
- Muller-Fuega, A., Moal, J., Kaas, R. (2003). The Microalgae of Aquaculture. In: Støttrup, J.G., & McEvoy, L.A. (eds) *Live Feeds in Marine Aquaculture*. Blackwell Science Ltd, Cornwall, p 117-252.
- Muller-Fuega, A., Robert, R., Cahu, C., Robin, J., Divanach, P. (2003). Uses of Microalgae in Aquaculture. In: Støttrup, J.G., & McEvoy, L.A. (eds) *Live Feeds in Marine Aquaculture*. Blackwell Science Ltd, Cornwall, p 253-299.
- Nakase, G., & Eguchi, M. (2007). Analysis of bacterial communities in *Nannochloropsis* sp. cultures used for larval fish production. *Fisheries Science* (73), 543–549.
- Natrah, F. M. I., Bossier, P., Sorgeloos, P., Yusoff, F. M., & Defoirdt, T. (2014).



- Significance of microalgal-bacterial interactions for aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 6(1), 48–61.
- Narváez-Zapata, J., Tebbe, C. C., & Ortega-Morales, B. O. (2005). Molecular diversity and biomass of epilithic biofilms from intertidal rocky shores in the Gulf of Mexico. *Biofilms*, 2(2), 93–103.
- Nicolas, J. L., Corre, S., & Cochard, J. C. (2004). Bacterial population association with phytoplankton cultured in a bivalve hatchery. *Microbial Ecology*, 48(3), 400–413.
- Nicolas, J. L., Robic, E., & Ansquer, D. (1989). Bacterial flora associated with a trophic chain consisting of microalgae, rotifers and turbot larvae: Influence of bacteria on larval survival. *Aquaculture*, 83(3–4), 237–248.
- Øie, G., Reitan, K.I., Evjemo, R.J., Støttrup, J., Olsen, Y. (2011). Live feeds. In: Holt, G.J. (eds) *Larval Fish Nutrition*. Wiley-Blackwell, A John Wiley & Sons, Inc., Publication, Oxford, p 307-334.
- Park, B. S., Guo, R., Lim, W. A., & Ki, J. S. (2017). Pyrosequencing reveals specific associations of bacterial clades Roseobacter and Flavobacterium with the harmful dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides* growing in culture. *Marine Ecology*, 38(6), 1–8.
- Prieto, A., Barber-Lluch, E., Hernández-Ruiz, M., Martínez-García, S., Fernández, E., & Teira, E. (2015). Assessing the role of phytoplankton-bacterioplankton coupling in the response of microbial plankton to nutrient additions. *Journal of Plankton Research*, 38(1), 55–63.
- Pruesse, E., Quast, C., Knittel, K., Fuchs, B., Ludwig, W., Peplies, J., Glöckner, F. (2007). SILVA: a comprehensive online resource for quality checked and aligned ribosomal RNA sequence data compatible with ARB. *Nucleic Acids Res.* 35, 7188-7196.
- Qi, F., Huang, Z., La, Q., Li, D., & Shao, Z. (2016). *Kordia ulvae* sp. nov., a bacterium isolated from the surface of green marine algae *Ulva* sp. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(7), 2623–2628.
- Quijano, G., Arcila, J. S., & Buitrón, G. (2017). Microalgal-bacterial aggregates: Applications and perspectives for wastewater treatment. *Biotechnology Advances*, 35(6), 772–781.
- Quince, C., Lanzén, A., Curtis, T. P., Davenport, R. J., Hall, N., Head, I. M., Read, L.F., Sloan, W. T. (2009). Accurate determination of microbial diversity from 454 pyrosequencing data. *Nature Methods*, 6(9), 639–641.
- Rajasabapathy, R., Mohandass, C., Yoon, J. H., Dastager, S. G., Liu, Q., Khieu, T. N., Son, S.G., Li, W-J., Colaco, A. (2015). *Nioella nitratreducens* gen. nov., sp. nov., a novel member of the family Rhodobacteraceae isolated from Azorean Island. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 107(2), 589–595.

- Ramanan, R., Kang, Z., Kim, B. H., Cho, D. H., Jin, L., Oh, H. M., & Kim, H. S. (2015). Phycosphere bacterial diversity in green algae reveals an apparent similarity across habitats. *Algal Research*, 8, 140–144.
- Raut, N. G., Pasini, P., Harohalli, S., Flomenhof, D. R. A., & Daunert, S. (2010). Biosensing systems for the detection of quorum sensing signaling molecules in clinical samples. *Abstracts of Papers of the American Chemical Society*, 240(22), 7603–7609.
- Regunathan, C., & Wesley, S. G. (2004). Control of *Vibrio* spp. in Shrimp Hatcheries Using the Green Algae *Tetraselmis suecica*. *Asian Fisheries Science*, 17, 147–158.
- Rippka, R., & Cohen-Bazire, G. (1983). The cyanobacteriales: A legitimate order based on the type strain *Cyanobacterium stanieri*? *Annales de l'Institut Pasteur Microbiology*, 134(1), 21–36.
- Roh, S. W., Quan, Z. X., Nam, Y. Do, Chang, H. W., Kim, K. H., Rhee, S. K., Oh, H. M., Jeon, C.O., Yoon, J-H., Bae, J. W. (2008). *Marinobacter goseongensis* sp. nov., from seawater. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58(12), 2866–2870.
- Romanenko, L. A., Uchino, M., Frolova, G. M., & Mikhailov, V. V. (2007). *Marixanthomonas ophiurae* gen. nov., sp. nov., a marine bacterium of the family Flavobacteriaceae isolated from a deep-sea brittle star. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(3), 457–462.
- Royo-Llonch, M., Ferrera, I., Cornejo-Castillo, F. M., Sánchez, P., Salazar, G., Stepanauskas, R., Gonzalez, J.M., Sieracki, M.E., Speich, S., Stemmann, L., Pedroz-Alio, C., Acinas, S. G. (2017). Exploring microdiversity in novel *Kordia* sp. (Bacteroidetes) with proteorhodopsin from the tropical Indian Ocean via Single Amplified Genomes. *Frontiers in Microbiology*, 8(JUL), 1–14.
- Sahoo, D., Baweja, P. (2015). General characteristics of Algae. In: Sahoo, D., & Seckbach, J. (eds) *The Algae World* (Vol. 26). Springer, Berlin, p 3-29.
- Saimmai, A., Maneerat, S., & Chooklin, C. S. (2018). Using Corn Husk Powder as a Novel Substrate to Produce a Surface Active Compound from *Labrenzia* aggregate KP-5. *Journal of Surfactants and Detergents*, 21(4), 523–539.
- Salvesen, I., Reitan, K. I., Skjermo, J., & OØie, G. (2000). Microbial environments in marine larviculture: Impacts of algal growth rates on the bacterial load in six microalgae. *Aquaculture International*, 8(4), 275–287.
- Schloss, P. D., Westcott, S. L., Ryabin, T., Hall, J. R., Hartmann, M., Hollister, E. B., Lesniewski, R.A., Oakley, B.B., Parks, D.H., Robinson, C.J., Sahl, J.W., Stres, B., Thallinger, G.G., Van Horn, D.J., Weber, C. F. (2009). Introducing mothur: Open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(23), 7537–7541.
- Seixas, P., Coutinho, P., Ferreira, M., & Otero, A. (2009). Nutritional value of the

- cryptophyte *Rhodomonas lens* for *Artemia* sp. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 381(1), 1–9.
- Seyedsayamdost, M. R., Carr, G., Kolter, R., & Clardy, J. (2011). Roseobacticides : Small Molecule Modulators of an Algal-Bacterial Symbiosis, 18343–18349.
- Seymour, J. R., Amin, S. A., Raina, J. B., & Stocker, R. (2017). Zooming in on the phycosphere: The ecological interface for phytoplankton-bacteria relationships. *Nature Microbiology*, 2.
- Sharifah, E.N., Eguchi, M.,(2012). Benefits of live phytoplankton , *Chlorella vulgaris* , as a biocontrol agent against fish pathogen *Vibrio anguillarum* . *Fish Science*, 78, 367-373.
- Styring, S., Sjöholm, J., & Mamedov, F. (2012). Two tyrosines that changed the world: Interfacing the oxidizing power of photochemistry to water splitting in photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, 1817(1), 76–87.
- Sung, H. R., Lee, J. M., Kim, M., Yun, B. R., & Shin, K. S. (2015). Donghicola tyrosinivorans sp. Nov., A tyrosinedegrading bacterium isolated from seawater. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 65(11), 4140–4145.
- Thompson, A. W., Foster, R. A., Krupke, A., Carter, B. J., Musat, N., Vaultot, D., Zehr, J. P. (2012). Unicellular cyanobacterium symbiotic with a single-celled eukaryotic alga. *Science*, 337(6101), 1546–1550.
- Tremblay, R., Cartier, S., Miner, P., Pernet, F., Quéré, C., Moal, J., Muzellec, M.-L., Mazuret, M., Samain, J. F. (2007). Effect of *Rhodomonas salina* addition to a standard hatchery diet during the early ontogeny of the scallop *Pecten maximus*. *Aquaculture*, 262(2–4), 410–418.
- Tulli, F., Chini Zittelli, G., Giorgi, G., Poli, B. M., Tibaldi, E., & Tredici, M. R. (2012). Effect of the inclusion of dried tetraselmis suecica on growth, feed utilization, and fillet composition of European sea bass Juveniles fed organic diets. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 21(3), 188–197.
- Tummala, J., Pamidighantam, P. R., Babu, P. M., & Akula, S. (2012). Selection and application of annatto (*Bixa orellana* L.) dye formulations in some traditional sweetmeat and savoury products. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 71(12), 788–793.
- Uchino, Y., Hirata, A., Yokota, A., & Sugiyama, J. (1998). Reclassification of marine Agrobacterium species: Proposals of *Stappia stellulata* gen. nov., comb. nov., *Stappia aggregata* sp. nov., nom. rev., *Ruegeria atlantica* gen. nov., comb. nov., *Ruegeria gelatinovora* comb. nov., *Ruegeria algicola* comb. nov., and *Ahrensia kieliense* gen. nov., sp. nov., nom. rev. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 44(3), 201–210.
- Van Tol, H. M., Amin, S. A., & Virginia Armbrust, E. (2017). Ubiquitous marine bacterium inhibits diatom cell division. *ISME Journal*, 11(1), 31–42.

- Van Mooy, B. A. S., Hmelo, L. R., Sofen, L. E., Campagna, S. R., May, A. L., Dyhrman, S. T., Heithoff, A., Webb, E.A., Momper, L., Mincer, T. J. (2012). Quorum sensing control of phosphorus acquisition in *Trichodesmium* consortia. *ISME Journal*, 6(2), 422–429.
- Vizcaíno, A. J., Saéz, M. I., López, G., Arizcun, M., Abellán, E., Martínez, T. F., Cerón-García, M.C., Alarcón, F. J. (2016). *Tetraselmis suecia* and *Tisochrysis lutea* meal as dietary ingredients for gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) fry. *Journal of Applied Phycology*, 28(5), 2843–2855.
- Vraspir, J. M., & Butler, A. (2009). Chemistry of Marine Ligands and Siderophores. *Annu. Rev. Marine. Sci.*, 1, 43–63.
- Wang, H., Tomasch, J., Jarek, M., & Wagner-Dobler, I. (2014). A dual-species co-cultivation system to study the interactions between Roseobacters and dinoflagellates. *Frontiers in Microbiology*, 5(JUN), 1–11.
- Xu, H., Jiang, L., Li, S., Zeng, X., & Shao, Z. (2015). *Mameliella atlantica* sp. nov., a marine bacterium of the Roseobacter clade isolated from deep-sea sediment of the South Atlantic Ocean. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 65(7), 2255–2259.
- Yamamoto, M., Murai, H., Takeda, A., Okunishi, S., & Morisaki, H. (2005). Bacterial Flora of the Biofilm Formed on the Submerged Surface of the Reed *Phragmites australis*. *Microbes Environ*, 20(1), 14–24.
- Yao, S. (2018). Microalgae – bacteria symbiosis in microalgal growth and biofuel production : a review, 359–368.
- Yin, Y. C., Yu, H. L., Luan, Z. J., Li, R. J., Ouyang, P. F., Liu, J., & Xu, J. H. (2014). Unusually Broad Substrate Profile of Self-Sufficient Cytochrome P450 Monooxygenase CYP116B4 from *Labrenzia aggregata*. *ChemBioChem*, 15(16), 2443–2449.
- Zhang, C. S., Zhang, Z. J., Li, C. X., Yu, H. L., Zheng, G. W., & Xu, J. H. (2012). Efficient production of (R)-o-chloromandelic acid by deracemization of o-chloromandelonitrile with a new nitrilase mined from *Labrenzia aggregata*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 95(1), 91–99.
- Zhang, Y., Liu, Z., Sun, J., Xue, C., & Mao, X. (2018). Biotechnological production of zeaxanthin by microorganisms. *Trends in Food Science and Technology*, 71(November 2017), 225–234.
- Zheng, Q., Chen, C., Wang, Y. N., & Jiao, N. (2010). *Oceanicola nitratreducens* sp. nov., a marine alphaproteobacterium isolated from the South China Sea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60(7), 1655–1659.
- Ziesche, L., Bruns, H., Dogs, M., Wolter, L., Mann, F., Wagner-Döbler, I., Brinkhoff, T., Schulz, S. (2015). Homoserine Lactones, Methyl Oligohydroxybutyrates, and Other Extracellular Metabolites of Macroalgae-Associated Bacteria of the

Roseobacter Clade: Identification and Functions. *ChemBioChem*, 16(14), 2094–2107.